



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

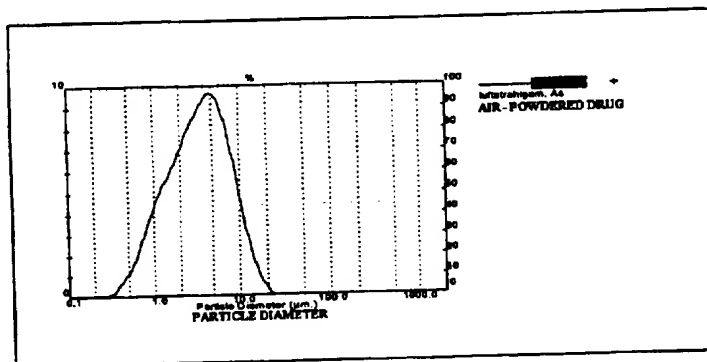
<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 9/10, 9/14</p>	A1	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/14830</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 23. Mai 1996 (23.05.96)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/04401</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 9. November 1995 (09.11.95)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 44 40 337.2 11. November 1994 (11.11.94) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DDS DRUG DELIVERY SERVICE GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER FORSCHUNG IN PHARMAZEUTIS- CHER TECHNOLOGIE UND BIOPHARMAZIE MBH [DE/DE]; Kronskamp 11, D-24119 Kronshagen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Rainer, H. [DE/DE]; Stubenrauchstrasse 66, D-12161 Berlin (DE). BECKER, Robert [DE/DE]; Dr. K. Thomae GmbH, Birk- endorferstrasse 65, D-88397 Biberach (DE). KRUSS, Bernd [DE/DE]; Dr. K. Thomae GmbH, Birkendorferstrasse 65, D-88397 Biberach (DE). PETERS, Katrin [DE/DE]; Rathenowerstrasse 22, D-10559 Berlin (DE).</p> <p>(74) Anwalt: VAN HEESCH, Helmut; Uexküll & Stolberg, Besel- erstrasse 4, D-22607 Hamburg (DE).</p>		
<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UG, US, UZ, VN, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO Patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>		

(54) Title: PHARMACEUTICAL NANOSUSPENSIONS FOR MEDICAMENT ADMINISTRATION AS SYSTEMS WITH INCREASED SATURATION SOLUBILITY AND SPEED OF DISSOLUTION

(54) Bezeichnung: PHARMAZEUTISCHE NANOSUSPENSIONEN ZUR ARZNEISTOFFAPPLIKATION ALS SYSTEME MIT ERHÖHTER SÄTTIGUNGSLÖSLICHKEIT UND LÖSUNGSGESCHWINDIGKEIT

(57) Abstract

Systems with a strongly increased saturation solubility (Cs) are obtained by preparing nanosuspensions of medicaments. The saturation solubility of medicaments with low bioavailability may thus be increased. This additional increase of the saturation solubility increases the speed of dissolution beyond what can be achieved by simply enlarging the surface of the medicament. Extremely stable nanosuspensions are obtained by using very low surfactant and stabiliser concentrations. Surfactant-free nanosuspensions may be prepared. Large-scale production of nanosuspensions with a very low content of micrometric particles is made possible by cavitation, with its accompanying advantages. The preparation of nanosuspensions by cavitation was thought to be impossible because the powdered medicament particles were expected to block the more or less 25 µm wide gap. Alternatively, the nanosuspensions may be prepared by shearing or impact in flow dispersion machines while respecting the above principles of optimum stabilisation or surfactant-free preparation.



(57) Zusammenfassung

Durch Überführung von Arzneistoffen in Nanosuspensionen werden Systeme mit einer stark erhöhten Sättigungslöslichkeit (Cs) erhalten. Bei Arzneistoffen, deren Bioverfügbarkeit aufgrund ihrer niedrigen Sättigungslöslichkeit zu gering ist, kann diese durch Herstellung einer Nanosuspension erhöht werden. Es kann eine über die durch die Oberflächenvergrößerung bewirkte Steigerung hinausgehende Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit erzielt werden, die durch die zusätzliche Erhöhung der Cs bewirkt wird. Nanosuspensionen mit höchster Stabilität werden durch Einsatz sehr niedriger Tensid- und Stabilisatorkonzentrationen erreicht. Tensidfreie Nanosuspensionen können hergestellt werden. Großtechnische Herstellung von Nanosuspensionen mit einem sehr geringen Gehalt an Partikeln im Mikrometerbereich ist mit Kavitation und den damit verbundenen Vorteilen möglich. Eine Herstellung durch Kavitation war nicht für möglich erachtet worden, da eine Blockierung des ca. 25 µm breiten Spaltes durch die pulverisierten Arzneistoffpartikel erwartet wurde. Alternativ kann die Herstellung über Scher- und Prallwirkung in Strömungsdispergiermaschinen unter Ausnutzung der obigen Prinzipien optimaler Stabilisierung oder tensidfreier Herstellung erfolgen.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Beschreibung der Erfindung

Pharmazeutische Nanosuspensionen zur Arzneistoffapplikation als Systeme mit erhöhter Sättigungslöslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit

1. Bereich der Erfindung

Die Erfindung betrifft einen Arzneistoffträger aus reinem Wirkstoff mit hoher Sättigungslöslichkeit und hoher Lösungsgeschwindigkeit, die physikalische Stabilisierung - insbesondere auch unter Verwendung sehr niedriger Tensid- und Stabilisatorkonzentrationen - sowie Verfahren und Verfahrensparameter zu seiner Herstellung, die Arzneistoffträger mit einem mittleren Durchmesser von 10 - 1000 nm erzeugen bei gleichzeitig so niedrigem Gehalt an Mikropartikeln in der Teilchenpopulation, so daß neben anderen Applikationsformen auch intravenöse Injizierbarkeit möglich ist.

2. Definition und Vorteile von Nanosuspensionen

Definition der Nanosuspension im Sinne der Erfindung:

Disperses System fest in flüssig oder fest in halbfest, wobei die dispergierte Phase aus reinem Wirkstoff oder einem Wirkstoffgemisch besteht. Der mittlere Durchmesser der dispergierten Phase liegt zwischen 10 nm und 1000 nm (bestimmt mit Photonenkorrelationsspektroskopie), wobei die Verteilung der Population recht eng ist, das heißt der Anteil an Mikropartikeln in der Teilchenpopulation ist sehr gering. Die Nanosuspension kann tensidfrei sein, aber auch Tenside oder Stabilisatoren oder beide enthalten. Die Nanosuspension kann auch lyophilisiert oder sprühgetrocknet sein, auch können die Nanopartikel einer Nanosuspension in eine feste Trägermatrix eingearbeitet sein.

Vorteile von Nanosuspensionen

Die Herstellung von Arzneistoffpartikeln mit einer Größe im Nanometerbereich hat viele Vorteile aus pharmazeutische-technologische, biopharmazeutischer, pharmakologischer und medizinischer Sicht. Einige davon sind:

1. Die Lösungsgeschwindigkeit steigt mit Vergrößerung der Partikeloberfläche entsprechend dem Gesetz von Noyes-Whitney. Dadurch erhöht sich die Anflutungsgeschwindigkeit von Wirkstoffen, der maximale Plasmaspiegel wird schneller erreicht (z.B. orale oder i.v. Applikation einer Nanosuspension). Herstellung von Nanosuspensionen ist somit für alle Substanzen interessant, bei denen die Auflösungsgeschwindigkeit der bestimmende Faktor für die Bioverfügbarkeit ist.
2. Die intravenöse Applikation schwerlöslicher Wirkstoffe kann durch Nanosuspensionen ermöglicht werden. Immer mehr neu entwickelte Arzneistoffe besitzen eine sehr niedrige Löslichkeit oder sind fast unlöslich, und zwar gleichzeitig in Wasser und organischen Lösungsmitteln. Eine pharmakologische Testung ist nach oraler oder i.m. Applikation aufgrund der durch die niedrige Löslichkeit bedingten geringen Bioverfügbarkeit nicht möglich. Intravenöse Injektion scheidet aufgrund Fehlens eines geeigneten Lösungsmittelgemisches aus. Als Nanosuspension kann der Wirkstoff ohne Blockade von Blutkapillaren injiziert werden. In dem im Vergleich zum Injektionsvolumen relativ großen Blutvolumen (z.B. 20 ml zu 6 l) kommt es dann zu einer Auflösung des Wirkstoffes, wobei die Blutproteine oft zusätzlich lösungsvermittelnde Wirkung haben.
3. Über Formulierung als Nanosuspension kann eine Reduzierung des Injektionsvolumens von Arzneistoffen erzielt werden. Bei geringer Wasserlöslichkeit resultiert ein relativ großes zu applizierendes Volumen bei Verabreichung eines Wirkstoffes als Lösung. Alternativ kann der Wirkstoff als Nanosuspension formuliert werden,

- 3 -

wobei die Arzneistoffpartikel in einer gesättigten Lösung des Wirkstoffes dispergiert sind. So könnte eine Infusion durch eine Bolusinjektion ersetzt werden.

- 5 4. Nanosuspensionen können zur kontrollierten Arzneistoff-
applikation eingesetzt werden. Nach oraler Gabe könnte über die
M Zellen im Gastrointestinaltrakt eine orale Immunisierung
erfolgen, über Bioadhäsiva könnte eine selektive Anreicherung in
Absorptionsfenstern des Gastrointestinaltraktes erzielt werden.

10

5. Nanosuspensionen sind Delivery Systeme für das Drug Targeting.
Nach intravenöser Injektion reichern sich Partikel in Abhängig-
keit von ihren Oberflächeneigenschaften in bestimmten Organen
gezielt an, z.B. Leber, Milz oder Knochenmark (R.H. Müller,
15 Colloidal Carriers for Controlled Drug Delivery and Targeting,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 1991). Nach
parenteraler Applikation läßt sich eine Anreicherung im Lymphsy-
stem erzielen. Gezielte Anreicherung des Arzneistoffes am Wirkort
reduziert die Nebenwirkungen, erhöht die therapeutische Effizienz
20 und damit den therapeutischen Index.

3. Kenntnisstand über Nanosuspensionen und Herstellungstechno- logie

- 25 Die Vorteile von Nanosuspensionen konnten bisher nicht ausgenutzt
werden, da mit konventionellen Mahltechniken (Trockenmahlung in
Kugelmühle, Luftstrahlmahlung) dieser Teilchengrößenbereich nur
sehr beschränkt zugänglich ist. Man erhält bei der Luftstrahlmah-
lung zwar Pulver mit 100% der Teilchen kleiner als ca. 25 - 50
30 µm, diese Pulver enthalten jedoch nur einen Anteil von wenigen
Prozent an Partikeln im Nanometerbereich. Beispielhaft ist die
mit dem Laser Diffractometer (LD) gemessene Teilchengrößenver-
teilung des luftstrahlgemahlenen Arzneistoffs RMKP 22 (4-[N-(2-
Hydroxy-2-methyl-propyl)-ethanolamin]-2,7-bis(cis-2,6-dimethyl-
35 morpholin-4-yl)-6-phenyl-pteridin) in Figur 1 dargestellt. 100%
der Teilchen sind zwar kleiner als 25 µm, jedoch nur 8% der

Partikel befinden sich in dem Bereich unterhalb 1000 nm, d.h. 92% sind > 1 µm. Man könnte nun annehmen, daß man die Nanometerfraktion abtrennt und die restlichen Partikel einem erneuten Mahlprozeß unterwirft, um so zu weiteren Nanopartikeln zu kommen. Dies ist jedoch nur beschränkt möglich, da man im fortschreitenden Mahlprozeß mit zunehmendem Zerkleinerungsgrad zu immer perfekteren Kristallen kommt, die nachher durch die maximal erreichbaren Mahlkräfte nicht mehr weiter zu zerkleinern sind (P. List, Arzneiformenlehre, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 1976). Zusammenfassend ist somit festzustellen, daß Nanopartikel aus Arzneistoffen mit konventioneller Trockenmahltechnik und anschließender Fraktionierung hergestellt werden können, jedoch mit einem großen Nachteil: Wirkstoffverlust von ca. mehr als 90%. Die Wirtschaftlichkeit ist in der Regel nicht mehr gegeben.

Als weitere Mahltechnik wurde die Naßmahlung eingesetzt (Sandell, E., Grundriss der Galenischen Pharmazie, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt am Main, 1962), zum Beispiel unter Verwendung einer Premier Mill Mühle (Sandell, a.a.O.) oder einer Kugel- bzw. Perlmühle (Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Springer - Verlag, Berlin, 1925). Bei Anwendung einer Perlmühle ergibt sich zwar eine Hauptpopulation an Partikeln im Nanometerbereich, jedoch ist noch ein deutlicher Anteil an Partikeln oberhalb von 1 µm vorhanden. Figur 2 zeigt die LD - Durchmesser 50%, 90%, 95%, 99% aus der Partikelgrößenverteilung des Arzneistoffes RMKP 22. RMKP 22 wurde (Dispermat) ohne Tensidzusatz (Figur 2: A) und unter Zusatz von 3% Tween 80 (Figur 2: A+Tensid) in der Perlmühle gemahlen. Es liegt bereits der Durchmesser 50% der tensidfreien Probe bei ca. 2 µm, d. h. 50% der Partikel sind > als 2 µm. Ein Teil dieser Mikrometerpartikel kann auf Agglomeration zurückgeführt werden. Wie in der Literatur beschrieben (Sandell, a.a.O.; P.H. List, Arzneiformenlehre, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1976; Sucker, H, Speiser, P., Fuchs, P., Pharmazeutische Technologie, George Thieme Verlag Stuttgart, 1978; Münzel, K., Büchi, J., Schultz, O.-E., Galenisches Prak-

tikum, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1959) kann die Aggregation in Suspensionen durch Zusatz von Tensiden (Tween 80, Pluronic F 68) oder allgemein Stabilisatoren (z.B. Polyvinylpyrrolidon - PVP, Pluronic F 68) verhindert werden. Nach
5 Zusatz von Tween 80 zur Verhinderung der Aggregation ergab sich nur eine geringfügige Reduzierung in den Durchmessern der Volumenverteilung, was den weniger effektiven Verkleinerungsprozeß einer Perlmühle an sich belegt (Figur 2). Eine weitere Reduzierung in der Teilchengröße in derartigen Mühlen ist möglich, wenn
10 die Viskosität des Dispersionsmediums erhöht wird, wobei die Drehzahl jedoch konstant bleiben muß (W. Holley, Dissertation, Friedrichs Universität Karlsruhe, 1984; W. Holley, Homogenisieren mit Hochdruck, Niederdruck, Ultraschall und anderen Techniken, Vortrag 35. Jahreskongreß der APV, Straßburg, 1989). In der Regel
15 wird dies auch von den Mühlenherstellern empfohlen (z.B. Dyno-Mill, A. Bachoffen AG Maschinenfabrik). Tensid-stabilisierte Mikropartikel wurden ebenfalls patentiert (United States Patent No. 5,246,707), wobei diese auch noch Eisenpartikel innerhalb der Mikropartikel enthalten können, um eine Lokalisierung der Partikel über magnetische Felder zu ermöglichen.
20

Die Herstellung von Nanosuspensionen durch Naßmahlung wurde von Motoyama et al. als Verfahren patentiert (U.S. Patent No. 4,540,602) und von Liversidge et al. die Naßmahlung mit einer
25 Perlmühle unter Zusatz von Substanzen wie PVP und Pluronic F68 (U.S. Patent No. 5,145,684). Die Verfahren haben jedoch folgende Nachteile:

1. Es ist nur eine chargenweise Produktion mit einer für indu-
30 strielle Fertigung zu geringen Ansatzgröße möglich.
2. Es kommt zum Abrieb an den eingesetzten Mahlperlen (Zirkondioxid, Glas). Zirkondioxid und Glasabrieb mag für orale Applikation noch tolerabel erscheinen, jedoch weniger für
35 parenterale oder gar intravenöse Gabe.

3. Es ist immer noch ein relativ großer Anteil an Partikeln > 5 µm vorhanden. Analyse der Charge aus Figur 2 mit dem Coulter counter Multisizer II, der sensitiver als ein Laser Diffractometer ist, ergab eine Zahl von 52.671.000 Partikel pro ml einer 5%igen Arzneistoffsuspension, die oberhalb von 5 µm waren.

Eine andere seit langem bekannte Herstellungsmethode ist "via humida paratum", die Präzipitation durch Eingießen einer Wirkstofflösung in ein Nichtlösungsmittel (Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Springer - Verlag, Berlin, 1925). Durch Eingießen in das Nichtlösungsmittel wird der Ostwald Miersche Bereich schnell durchlaufen und es kommt zur Ausfällung eines sehr feinen Präzipitates. Die ausgefällten Partikel weisen ebenfalls einen deutlichen Anteil im Mikrometerbereich auf. Figur 3 zeigt die Teilchengrößenverteilung (Laser Diffractometer, Volumenverteilung) einer RMKP 22 Suspension, via humida paratum hergestellt. Der Arzneistoff wurde in Ethanol gelöst (3%, 20 ml) und in 100 ml einer wäßrigen Tensidlösung gegossen (1,2% Pluronic F 68). Das Ende des Meßbereiches beträgt 80µm, große Fraktion zwischen ca. 18 µm bis 80 µm wurden detektiert.

Die Herstellung von Nanosuspensionen durch Präzipitation wurde ebenfalls patentiert (EP O 275,796 and EP O 418 151 A1 (Modell-arzneistoff: Amphotericin)).

Die Präzipitation hat jedoch folgende Nachteile:

1. Restgehalt des Produktes an Lösungsmitteln, der nur sehr schwer oder nicht vollständig zu entfernen ist.
2. Beim Ausfällen kommt es zu einer Verzögerung der Arzneistoffkristallisation.
3. Teilweise recht hoher Anteil an Partikeln im Mikrometerbereich.

- 7 -

Nanosuspensionen können ebenfalls durch starke Scherkräfte in Flüssigkeiten (jet stream) verbunden mit dem Aufeinanderprallen von Partikeln hergestellt werden: Geräte zur Erzeugung von Flüssigkeitsströmen mit hoher Geschwindigkeit (z.B. 700 m/s) sind
5 der Mikrofluidizer (Microfluidics Inc.) oder der Nanojet (Nanojet Engineering GmbH), eine Weiterentwicklung des Mikrofluidizers.

3. Beschreibung der Erfindung:

10 Hauptschwierigkeiten bei der Herstellung von Nanosuspensionen sind u.a. die Reduzierung des Anteils an Partikeln im Mikrometerbereich (besonders an Partikeln größer 5 µm bei Suspensionen zur i.v. Applikation) sowie die Verwendung eines Verfahrens, daß
15 sowohl die großtechnische Produktion erlaubt als auch gleichzeitig ein Produkt ergibt, das aus toxikologischer Sicht als Arzneimittel durch die Zulassungsbehörden (Bundesgesundheitsamt in der BRD, FDA in den USA) zulassungsfähig ist. Zur Dispergierung von Ölen im Rahmen der Produktion von Fettemulsionen zu parenteralen Ernährung werden zur großtechnischen Produktion seit
20 vielen Jahren Kolben-Spalt-Hochdruckhomogenisatoren eingesetzt. Das Dispergierungsprinzip ist die Kavitation. Hierbei wird eine grobdisperse Präemulsion durch einen ca. 25 µm breiten Spalt gedrückt. Hierbei sinkt nach Bernoulli (Sucker, H, Speiser, P., Fuchs, P., Pharmazeutische Technologie, George Thieme Verlag
25 Stuttgart, 1978) aufgrund der hohen Strömungsgeschwindigkeit der auf der Flüssigkeit lastende statische Druck unterhalb des Dampfdruckes der Flüssigkeit bei der herrschenden Temperatur ab. Die Flüssigkeit siedet, es kommt zur Bildung von Gasblasen, die beim Austritt aus dem Spalt unter nun herrschendem Normaldruck
30 kollabieren (Kavitation). Durch die starken Implosionskräfte kommt es zum Zerreißen der Öltropfen in Tropfen einer Größe von ca. 200 bis 500 nm. Eine Eignung dieses Dispergierungssystems zum Zerkleinern von Feststoffen - zugeführt in Form einer groben Suspension - wurde als nicht gegeben betrachtet, da erwartet
35 wurde, daß der Spalt durch Pulverpartikel mit einer Größe von bis zu 50 µm oder auch durch Aggregationen kleinerer Partikel

verstopfen würde. Auch war fraglich, ob die Implosionskräfte zur Zerkleinerung von Kristallen mit wenig Fehlstellen, d.h. sehr harten Kristallen, ausreichten.

- 5 Es wurden Suspensionen mit luftstrahlgemahlenem Arzneistoff in wäßriger Tensidlösung hergestellt. Die Arzneistoffkonzentration betrug 3%, 9% und 15%. Als Modellarzneistoff wurde RMKP 22 eingesetzt. Die Suspension wurde im Kolben-Spalt-Homogenisator unter den Bedingungen 1500 bar, drei Zyklen homogenisiert. Die
10 Durchmesser der resultierenden Nanopartikel sanken vom 1. bis zum 3. Zyklus (Beispiele 1 bis 3).

- Es wurde der Durchmesser der Hauptpopulation und der Anteil an Partikeln im Mikrometerbereich als Funktion der Zyklenzahl
15 untersucht. Der Durchmesser der Hauptpopulation und der Anteil an Partikeln im Mikrometerbereich nahmen mit der Anzahl der Zyklen ab, wobei ein starker Abfall während der ersten 3 bzw. 6 Zyklen auftrat, ein leichterer Abfall vom 5. bzw. 7. bis zum 10. Zyklus, keine Änderung mehr ab dem 10. Zyklus aufgrund des
20 Erreichens der Grenzdispersität unter der bei 1500 bar sich ergebenden Leistungsdichte (Beispiele 4 und 5).

- Nanosuspensionen, die nach 10 Zyklen erhalten wurden, zeigten einen mehrfach geringeren Anteil an Partikeln $> 1 \mu\text{m}$ und $> 5 \mu\text{m}$
25 pro Volumeneinheit als kommerzielle Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung (Beispiel 6). Bei Fettemulsionen auftretende Kapillarblockade ist durch die Metabolisierung der Fettemulsion reversibel. In ca. 4 Stunden wird eine applizierte Fettemulsion von den endothelständigen Lipasen abgebaut. Bei der Nanosuspension ist eine Blockade durch die Auflösung des Nanoteilchens
30 reversibel. Aufgrund der erhöhten Sättigungslöslichkeit (Beispiel 7) kommt es zu einem schnellen Auflösungsprozeß der Nanoteilchen bei Verdünnung der Nanosuspension (Beispiel 8).

- 35 Durch Verkleinern des Durchmessers der Mikropartikel von $3,64 \mu\text{m}$ (D_m) auf den Durchmesser der Nanosuspension von 800 nm (D_n) kam

es zu einer starken Erhöhung der Sättigungslöslichkeit. Durch Schüttelexperimente wurde eine Sättigungskonzentration für die RMKP 22 - Mikropartikelsuspension von Csm 1,98 mg/l, für die RMKP 22 - Nanosuspension eine deutlich höher Csn von 3,29 mg/l ermittelt (Beispiel 7).

Durch Verkleinerung der Teilchengröße wurde eine Erhöhung der Sättigungslöslichkeit zwar erwartet, jedoch nicht in dieser Höhe. Eine Erhöhung der Sättigungslöslichkeit bei Verkleinerung der Teilchengröße wird in der Gleichung von Ostwald-Freundlich postuliert (Voigt, R., Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie, Verlag Chemie Berlin, 1984), wobei diese jedoch bei Partikeln im Bereich von Mikrometern nicht zum Tragen kommt (alleinige Abhängigkeit der Sättigungslöslichkeit als substanzspezifische Kenngröße von der Temperatur):

$$\frac{R}{M} \cdot \ln \frac{C_{sm}}{C_{sn}} = \frac{4 \gamma}{\sigma} (1/D_n - 1/D_m)$$

20

R	- universelle Gaskonstante	T	- absolute Temperatur
M	- Molekülmasse		
Dm	- Durchmesser Mikropartikel	Csm	- Sättigungslöslichkeit Mikropartikel
Dn	- Durchmesser Nanopartikel	Csn	- Sättigungslöslichkeit Nanosuspension
y	- Grenzflächenspannung Wirkstoff	σ	- Dichte

25

Die in dieser Höhe aufgetretene Steigerung der Sättigungslöslichkeit ist schwerlich mit der relativ geringen Teilchengrößendifferenz zu erklären. Der einzige mögliche variable Parameter in obiger Gleichung ist die Grenzflächenspannung γ. Nach Ostwald-Freundlich ist die beobachtete Erhöhung der Sättigungslöslichkeit nur erklärbar durch eine nicht erwartete Änderung der Grenzflächenspannung γ, die durch den Homogenisationsprozeß erfolgt sein muß. Der Energieeintrag während des Homogenisationsprozesses muß zu einer Erhöhung von γ und einer damit verbundenen Erhöhung von der Sättigungslöslichkeit geführt haben. Somit ist es offensichtlich möglich, durch Überführung der

35

Mikropartikel in Nanopartikel mittels eines hochenergetischen Prozesses die Grenzflächenspannung so stark zu erhöhen, daß daraus resultierend die Sättigungslöslichkeit stark ansteigt.

- 5 Polymorphie, als eine mögliche Ursache für die höhere Sättigungs-
löslichkeit, konnte nicht nachgewiesen werden. Im Röntgendif-
fraktogramm ergeben sich keine Unterschiede zwischen Mikrop-
artikeln und der Nanosuspension. Eine andere mögliche Ursache ist
10 die Hydrophobisierung der Oberfläche durch Aufbrechen von
"idealen" Kristallen, die mit konventioneller Mahltechnik nicht
zerstörbar sind. Bruchflächen entstehen nicht mehr bevorzugt an
Fehlstellen (List, a.a.O.), sondern gehen direkt durch das
Kristall. Besitzen die aus einem idealen Kristall neu ent-
standenen Bruchflächen eine höhere Grenzflächenspannung, so
15 resultiert daraus eine höhere Sättigungslöslichkeit. Ein weiterer
möglicher Effekt, der nicht ausgeschlossen wird, ist die
Veränderung des Krümmungsradius. Die Packungsdichte der Tenside
an der Oberfläche ist durch die geänderten geometrischen
Verhältnisse nicht mehr optimal, daß heißt weniger dicht gepackt.
20 Daraus resultiert eine erhöhte Grenzflächenspannung an der
Grenzfläche der Nanopartikel.

Aus bisherigen Lagerdaten über mehrere Wochen ist dieser Zustand
einer höher gesättigten Lösung auch stabil, Partikelwachstum
25 durch Rekristallisation fand nicht statt. Die Noyes - Whitney
Gleichung beschreibt die Lösungsgeschwindigkeit dc/dt (Stricker,
H. (Hrsg), Physikalische Pharmazie, Wissenschaftliche Verlags-
gesellschaft, Stuttgart 1987):

$$30 \quad \frac{dc}{dt} = D A \cdot \frac{(C_s - C_t)}{dx}$$

- 11 -

dc/dt	- Lösungsgeschwindigkeit	D	- Diffusionskonstante
A	- Oberfläche der Partikel	Cs	- Sättigungskonzentration
Ct	- Konzentration zur Zeit t im Lösungsmedium		
dx	- Distanz zwischen gesättigter Schicht an der Teilchenoberfläche und dem Ort mit Ct		

5

Von den theoretischen Überlegungen war durch die Überführung der Mikropartikel in die Nanopartikel eine Steigerung der Lösungsgeschwindigkeit lediglich aufgrund der Vergrößerung der Oberfläche A erwartet worden, was bei Überführung eines 3,64 µm Partikels in ein 800 nm Teilchen eine Steigerung um den Faktor 4,55 ausmacht. Durch die überraschenderweise aufgetretene Erhöhung von Sättigungslöslichkeit (aufgrund der unerwarteten deutlichen Änderung der Grenzflächenspannung γ) kommt es zu einer zusätzlichen Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit. Dies bewirkt selbst in Lösungen mit einer Konzentration von Csm eine schnelle Partikelauflösung (Beispiel 8). Für eine intravenöse Applikation von Nanosuspensionen hat dies natürlich den Vorteil, daß es aufgrund der großen Verdünnung (z.B. 10 ml in 6 l) im Blut zu einer raschen Auflösung der injizierten Substanz kommt. Weiter fördernd auf die Auflösung wirken die im Blut vorhandenen Proteine über eine mögliche Solubilisierung von Wirkstoffen.

Als hochdisperses System kann bei den Nanosuspensionen eine Instabilität während der Lagerung nicht ausgeschlossen werden. Die Langzeitstabilität wurde daher mit PCS und Laser Diffractometrie untersucht. In Nanosuspensionen mit optimierter Zusammensetzung wurde über 8 Wochen Lagerung bei 4 - 8° C kein Teilchenwachstum detektiert (Beispiel 9).

Es wurden Untersuchungen zur Sterilisierbarkeit mittels Autoklavieren und auch mittels Gamma- durchgeführt. Der Einfluß folgender Parameter auf die Sterilisierbarkeit wurde bestimmt:

a. die chemische Natur des Tensides (z.B. Lecithine, verschiedene Phospholipide sowie als ethoxylierte Stabilisatoren Tween 80 und Pluronic)

- 12 -

b. Mischungen aus zwei und mehr Tensiden

c. die Konzentration der Tenside oder Stabilisatoren.

5 Aufgrund theoretischer Überlegungen sollten die Tensid- oder Stabilisatorkonzentration deutlich oberhalb der Konzentration zur Erreichung des Plateaus der Adsorptionsisothermen liegen, damit die Oberflächen der dispergierten Partikel dicht mit stabilisierenden Molekülen bedeckt sind. Bei ungenügender Oberflächenbelegung kann es zur Aggregatbildung mittels eines Bridging, anchoring oder einer Flockung durch Wechselwirkung hydrophober Tensidteile kommen (B. W. Müller, P. List, Arzneiformenlehre, im Druck). Speziell für sterische Stabilisatoren (z.B. ethoxylierte Blockcopolymere wie Pluronic) ist die Überschreitung der
10 Plateaukonzentration wichtig, da damit die maximale Adsorptionsschichtdicke erreicht wird (Kayes, J.B. and Rawlins, D.A., Adsorption characteristics of certain polyoxyethylene-polyoxypropylene block copolymers on polystyrene latex, Coll. Polym. Sci. 1979, 257, 622-629). Die sterische Stabilisierung nimmt mit
15 der Schichtdicke zu, wobei zur perfekten sterischen Stabilisierung eine Schichtdicke von > 10 nm erforderlich ist (Buscall, R. and Ottewill, R.H., The stability of polymer latices in Polymer Colloids, Elsevier Applied Science Publishers, London, 1986, pp 141-217). Oft ist es vorteilhaft, stark über die Plateaukonzentration hinauszugehen, da dann eine Stabilisierung durch Verdrängung möglich ist (B. W. Müller, P. List, Arzneiformenlehre, im Druck). Beim Annähern zweier Partikel werden die Tenside aus dem Zwischenraum verdrängt, es entsteht eine tensidfreie Zone zwischen den Partikeln. Zwischen der tensidfreien Zone und der
25 umgebenden Tensidlösung besteht nun eine osmotische Druckdifferenz, Tensidmoleküle drängen aufgrund dieser Differenz zwischen die Partikel, schieben sie wieder auseinander und verhindern so die Aggregation. Das Hineinschieben ist um so ausgeprägter, je größer die osmotische Differenz ist, das heißt je höher die
30 Tensidkonzentration in der Dispersion ist. Aufgrund oben ausgeführter Überlegungen kommen daher Tensidkonzentrationen im

Bereich von einem bis mehreren Prozent zum Einsatz. Die Standardtensidkonzentration in O/W Emulsionen zur parenteralen Ernährung ist daher auch 1,2% Lecithin (z.B. Handelsprodukte wie Intralipid, Lipofundin, Endolipide, Lipovenös etc.). Höhere Konzentrationen werden in der Literatur auch als wesentlich stabilisierender als 0.6% beschrieben und auch verwendet (Meyer, C.E., Fander, J.A., Schurr, P.E., Webster, H.D., *Metabolismo* 6, 591, 1957). Für ethoxylierte Tenside vom Typ Pluronic (Poloxamer) werden zur Erreichung des Plateaus der Adsorptionsisothermen ebenfalls - in Abhängigkeit vom Poloxamer-Typ, Werte im Bereich von 0.05% bis 0,1% angegeben (Kayes and Rawlins, a.a.O.; Wesemeyer, H., Dissertation, Christian - Albrechts - Universität Kiel, 1993), so daß hier ebenfalls zur Stabilisierung in der Regel Konzentrationen ab 1% aufwärts eingesetzt werden, oft sogar zuzüglich eines oder mehrerer anderer Koterside, was insgesamt zu Tensidkonzentrationen bis 5% führt (Schwarz, C., Mehnert, W., Lucks, J.S., Müller, R.H., *Solid lipid nanoparticles for controlled drug delivery*, *Journal of controlled release*, 1994; Westesen, K., Siekmann, B., *Submicron-sized parenteral carrier systems based on solid lipids*, *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, Springer-Verlag 1992).

Die Sterilisierung von Nanosuspensionen stabilisiert mit unterschiedlichen Tensidkonzentration ergab jedoch überraschenderweise geringstes Teilchenwachstum bei einer Tween 80 - Konzentration von 0.03% bis 0.1%, das heißt im Bereich der Konzentration zur Erreichung des Plateaus der Adsorptionsisothermen bzw. auch leicht darunter (Beispiel 12). Dies bedeutet, daß Nanosuspensionen bei sehr geringen Tensid- und Stabilisatorkonzentrationen optimale Ausgangssuspensionen für das Autoklavieren darstellen.

Da aus toxikologischer Sicht ein möglichst geringer Tensidgehalt wünschenswert ist, wurden auch tensidfreie Nanosuspensionen hergestellt (Beispiel 13). Eingesetzter Wirkstoff war Carbamazepin, zur Verringerung der Sedimentation beim Durchpumpen durch den

Homogenisator wurde zur Viskositätserhöhung Natriumcarboxymethylcellulose zugesetzt.

5 Der jet stream wurde als Dispergierprinzip ebenfalls auf seine Eignung untersucht. Es wurden ebenfalls qualitativ hochwertige Nanosuspensionen erhalten (Beispiel 14). Nachteilig bei diesem Prinzip ist seine bisherige noch relativ geringe Verbreitung in den Produktionsanlagen der pharmazeutischen Industrie.

10 Die bei der Dispergierung erhaltene Teilchengröße ist eine Funktion der eingesetzten Leistungsdichte, der Härte des Arzneistoffes, der Viskosität des Dispersionsmediums (Anstieg der Leistungsdichte mit der Viskosität bei gleichbleibender Strömungsgeschwindigkeit der dispergierenden Phase) sowie der
15 Tensideigenschaften (z.B. Wanderungsgeschwindigkeit der Tenside auf im Dispergierprozeß neu gebildete Oberflächen, stabilisierende Wirkung des Tensides auf der Oberfläche im Dispergierprozeß, d.h. unter Streßbelastung der Suspension aufgrund des hohen Eintrages an kinetischer Energie). Durch Modifikation der
20 Herstellungsparameter einerseits und der Rezepturzusammensetzung andererseits kann die erhaltene Teilchengröße beeinflußt werden. Herstellungsparameter und Rezepturzusammensetzung für eine Nanosuspension mit sehr kleinem mittleren Durchmesser gibt
Beispiel 15.

25 Die Anwendungsgebiete für die erfindungsgemäßen Arzneistoffträger sind vielfältig. Beispielsweise kann er zur parenteralen (besonders intravenösen Applikation und zur lymphatischen Absorption), enteralen (besonders mucoadhäsive Arzneiformen),
30 pulmonalen und topischen (nasal, dermal, intraoculär) Arzneistoffapplikation und zur Applikation in Körperhöhlen verwendet werden.

- 15 -

Bei der parenteralen Applikation handelt es sich um:

1. Intravenöse Gabe (Targeting zu Leber, Milz, Knochenmark, Lunge, Blutzellen wie Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten, Erzeugung von im Blut zirkulierenden Teilchen mit kontinuierlicher Auflösung des Wirkstoffes im Kompartiment Blut).
2. Lymphatische Aufnahme von Arzneistoffträgern durch Injektion in der Nähe von Lymphgefäßen (Targeting von Cytostatika zu Lymphknoten)
3. Intramuskuläre Gabe (Depotform für verlängerte oder langanhaltende Freisetzung von Wirkstoffen, z.B. Kortikoide. Aufgrund der reduzierten Flüssigkeitsmenge im Gewebe kommt es zu einem verlangsamten Auflöseprozess, vor allem von schwer- bis praktisch unlöslichen Wirkstoffen).
4. Intraartikuläre Gabe (z.B. für Antirheumatika und Immunsuppressiva bei Arthritis).
5. Intrakavitale Gabe (z.B. Cytostatika für Krebsformen im Peritoneum und in der Pleurahöhle)
6. Subkutane und intradermale Gabe (z.B. Depotformen für Cytostatika bei Hautkrebs)

Die enteralen Applikationsformen dienen insbesondere zur:

1. Erhöhung der Resorption durch Herstellung mucoadhäsiver Arzneistoffträger, die vermehrt sich an die Mucosa anlagern und dort auch länger verbleiben.
2. Oralen Immunisierung durch Wechselwirkung der Arzneistoffträger mit z.B. M Zellen in den Peyer's Patches.

3. Aufnahme von Wirkstoffen über die M Zellen.
4. Resorptionserhöhung lipophiler Wirkstoffe durch unspezifische Anlagerung an die Mucosa, z.B. lipophile Vitamine.
5. Aufnahme von Arzneistoffträgern ins lymphatische System.

Als pulmonale Applikationsformen kommen insbesondere in Betracht:

- 10 1. Aerosole, Dosieraerosole (Versprühen einer wäßrigen Dispersion der Arzneistoffträger)
- 15 2. Aerosole, Dosieraerosole (Versprühen eines Pulvers, wobei die Arzneistoffträger im Nanometerbereich auf Trägerpartikel wie Lactose im Mikrometerbereich aufgesprüht wurden. Die Lactose löst sich in der Lunge und setzt die Arzneistoffträger frei, z.B. zwecks Aufnahme durch Makrophagen oder z.B. sie verbleiben auf der Lungenoberfläche und es lösen sich Wirkstoffe mit Zielgruppe Peritonealzellen I oder II auf.
- 20 3. Instillation der Dispersion, wobei hier evtl. die Spreitung fördernde Substanzen wie Phospholipide oder Phospholipid - assoziierte Proteine zugesetzt werden.

Beispiele für die topische Anwendung:

- 30 1. Dermatologische Arzneimittel zur Applikation von z.B. Kortikoiden und Antimykotika. Durch die erhöhte Sättigungslöslichkeit der Arzneistoffträger entsteht ein höherer Konzentrationsgradient als bei Wirkstoffkristallen im Mikrometerbereich, die Aufnahme in die Haut ist begünstigt. Zusätzlich besteht bei den Arzneistoffträgern aufgrund ihrer geringen Größe die Möglichkeit, zwischen die Zwischenräume der Stratum corneum Zellen zu gelangen (analog zu Liposomen), was ebenfalls die Hautaufnahme begünstigt.
- 35

2. Augensuspensionen, Augengele oder Inserte, z.B. für Pilocarpin oder Betablocker. Aufgrund der partikulären Struktur kommt es zu verlängerten Verweilzeiten wie bereits für Nanopartikel aus Polymeren beschrieben. Die Inserte bewirken aufgrund der langsamen Löslichkeit eine sustained release ohne Verwendung einer Steuermembran.
3. Kosmetika analog den liposomalen Präparaten.
4. Partikuläre Applikation von Wirkstoffen in die Nase zwecks nasaler Resorption.

Beispiele für in Form einer Nanosuspension zu verarbeitende Arzneistoffgruppen sind (ggf. in Form ihrer wenig wasserlöslichen Form, z.B. als Base anstelle des Hydrochlorids):

1. Analgetika / Antirheumatika
z.B. Morphin, Codein, Piritramid, Fentanyl, Levo-methadon, Tramadol, Diclofenac, Ibuprofen, Indo-metacin, Naproxen, Piroxicam
2. Antiallergika
z.B. Pheniramin, Dimetinden, Terfenadin, Astemizol, Loratidin, Doxylamin, Meclozin
3. Antibiotika / Chemotherapeutika
z.B. Rifamycin, Ethambutol, Thiazetazon
4. Antiepileptika
z.B. Carbamazepin, Clonazepam, Mesuximid, Phenytoin, Valproinsäure
5. Antimykotika
a) intern:
z.B. Natamycin, Amphotericin B, Miconazol

b) extern außerdem:

z.B. Clotrimazol, Econazol, Fenticonazol, Bifonazol,
Ketoconazol, Tolnaftat

5 6. Corticoide (Interna)

z.B. Aldosteron, Fludrocortison, Betametason, Dexametason,
Triamcinolon, Fluocortolon, Hydrxycortison, Prednisolon,
Prednyliden, Cloprednol, Methylprednisolon

10 7. Dermatika

a) Antibiotika:

z.B. Tetracyclin, Erythromycin, Framycetin, Tyrothri-
cin, Fusidinsäure

b) Virustatika wie oben, außerdem:

15 z.B. Vidarabin

c) Corticoide wie oben, außerdem:

20 z.B. Amcinonid, Flupredniden, Alclometason, Clobeta-
sol, Diflorason, Halcinonid, Fluocinolon, Clocortolon,
Flumetason, Diflucortolon, Fludroxycortid, Halometa-
son, Desoximetason, Fluocinolid, Fluocortinbutyl,
Flupredniden, Prednicarbat, Desonid

10. Hypnotika, Sedativa

25 z.B. Cyclobarbital, Pentobarbital, Methaqualon, Benzodiaze-
pine (Flurazepam, Midazolam, Nitrazepam, Lormetazepam, Flu-
nitrazepam, Triazolam, Brotizolam, Temazepam, Loprazolam)

12. Immuntherapeutika und Zytokine

30 z.B. Azathioprin, Ciclosporin

13. Lokalanaesthetika

a) intern:

z.B. Butanilicain, Mepivacain, Bupivacain, Etidocain,
Lidocain, Articain

35 b) extern außerdem:

z.B. Oxybuprocain, Tetracain, Benzocain

14. Migränemittel
z.B. Lisurid, Methysergid, Dihydroergotamin, Ergotamin
- 5 15. Narkosemittel
z.B. Methohexital, Propofol, Etomidat, Ketamin, Thiopental, Droperidol, Fentanyl
- 10 16. Nebenschilddrüsenhormone, Calciumstoffwechselregulatoren
z.B. Dihydrotachysterol
- 15 17. Ophthalmika
z.B. Cycloclonin, Cyclopentolat, Homatropin, Tropicamid, Pholedrin, Edoxudin, Aciclovir, Acetazolamid, Diclofenamid, Carteolol, Timolol, Metipranolol, Betaxolol, Pindolol, Bupranolol, Levobunolol, Carbachol
18. Psychopharmaka
z.B. Benzodiazepine (Lorazepam, Diazepam), Clomethiazol
- 20 21. Sexualhormone und Ihre Hemmstoffe
z.B. Anabolika, Androgene, Antiandrogene, Gestagene, Estrogene, Antiestrogene
- 25 22. Zytostatika und Metastasehemmer
a) Alkylantien wie Melphalan, Carmustin, Lomustin, Cyclophosphamid, Ifosfamid, Trofosfamid, Chlorambucil, Busulfan, Prednimustin, Thiotepa
b) Antimetabolite wie Fluorouracil, Methotrexat, Mercaptopurin, Tioguanin
30 c) Alkaloide wie Vinblastin, Vincristin, Vindesin
d) Antibiotika wie Dactinomycin
e) Taxol und verwandte bzw. analoge Verbindungen
f) Dacarbazin, Estramustin, Etoposid

4. Beispiele:

Die Erfindung wird in den folgenden Beispielen näher erläutert:

5

Beispiel 1

Herstellung einer 3%igen Nanosuspension mit RMKP 22 (4-[N-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)-ethanolamin]-2,7-bis(cis-2,6-dimethylmorpholin-4-yl)-6-phenyl-pteridin):

10

<u>Grundrezeptur:</u>	RMKP 22	3,0
	Tween 80	0,1
	Aqua dest.	ad 100,0

15

Der pulverisierte Arzneistoff (luftstrahlgemahlen, Partikel bis über 25 µm) wurde mit einer konzentrierten Tensidlösung zur Benetzung in einer Reibschale angerieben, dann mit dem restlichen Aqua dest. unter Reiben aufgefüllt. Alternativ kann das Arzneistoffpulver auch unter Rühren in eine Tensidlösung eingebracht werden. Diese grobdisperse Suspension wurde dann bei Raumtemperatur durch einen kontinuierlich arbeitenden Micron LAB 40 gegeben. Homogenisationsbedingungen: 1500 bar, 1 - 4 Zyklen. Der mittlere Teilchendurchmesser der Stammsuspensionen (= Suspension mit 0 Zyklen) mit dem Laser Diffractometer gemessen, die resultierenden Nanosuspensionen mit PCS (PI = Polydispersitätsindex):

20

25

	<u>Durchmesser</u>	<u>PI</u>
Suspension mit 0 Zyklus:	3250 nm	
30 Suspension mit 2 Zyklen:	406 nm	0,244
Suspension mit 4 Zyklen:	208 nm	0,770

<u>Grundrezeptur:</u>	RMKP 22	3,0
	Tween 80	1,0
	Aqua dest.	ad 100,0

35

Herstellung wie bei Beispiel 1. Die resultierenden Nanosuspensionen hatten folgende PCS Kenndaten:

	<u>Durchmesser</u>	<u>PI</u>
5 Suspension mit 0 Zyklus:	3250 nm	
Suspension mit 2 Zyklen:	345 nm	0,197
Suspension mit 4 Zyklen:	242 nm	0,188

Beispiel 2

10

Herstellung einer 9%igen Nanosuspension mit RMKP 22:

<u>Grundrezeptur:</u>	RMKP 22	9,0
	Tween 80	0,3
15	Mannit	16,7
	Aqua dest. ad	100,0

Herstellung wie bei Beispiel 1. Die resultierenden Nanosuspensionen hatten folgende PCS Kenndaten:

20

	<u>Durchmesser</u>	<u>PI</u>
Suspension mit 0 Zyklus:	3170 nm	
Suspension mit 1 Zyklen:	817 nm	0,288
Suspension mit 2 Zyklen:	914 nm	0,425
25 Suspension mit 3 Zyklen:	646 nm	0,395
Suspension mit 4 Zyklen:	606 nm	0,276

Beispiel 3

Herstellung einer 15%igen Nanosuspension mit RMKP:

30

<u>Grundrezeptur:</u>	RMKP 22	15,0
	Tween 80	0,5
	Mannit	16,7
	Aqua dest. ad	100,0

- 22 -

Herstellung wie bei Beispiel 1. Die resultierenden Nanosuspensionen hatten folgende PCS Kenndaten:

	<u>Durchmesser</u>	<u>PI</u>
5 Suspension mit 0 Zyklus:	2880 nm	
Suspension mit 2 Zyklen:	273 nm	0,154

Beispiel 4

Herstellung einer 9%igen Nanosuspension mit RMKP 22 / Tween 80:

10 Durchmesser der Nanosuspension als Funktion der Zyklenzahl:

15	<u>Grundrezeptur:</u>	RMKP 22	9,0
		Glycerol 85%	16,7
		Tween 80	0,3
		Aqua dest.	ad 100,0

Herstellung der Suspension und anschließende Homogenisation wie in Beispiel 1. Homogenisationsparameter: 1500 bar, 1 bis 7
20 Zyklen. Die Nanosuspension wurde mit der PCS vermessen.

In Figur 4 werden die PCS-Durchmesser als Funktion der Zyklenzahl aufgetragen. Bereits nach ca. 3 Zyklen wird fast der minimale Durchmesser der Nanosuspension von 610 nm erzielt.
25

Um die Injizierbarkeit von Nanosuspensionen zu beurteilen wurden absolute Partikelzahlen pro Volumeneinheit Suspension mit dem Coulter counter bestimmt (vergl. Beispiel 6).

Beispiel 5Herstellung einer 9%igen Nanosuspension mit RMKP 22/Lecithin -
Durchmesser der Nanosuspension als Funktion der Zyklenzahl:

- 5 Grundrezeptur:
- | | |
|-----------------|----------|
| RMKP 22 | 9,0 |
| Glycerin 85% | 2,5 |
| Phospholipon 90 | 0,6 |
| Aqua dest | ad 100,0 |
- 10 Herstellung der Suspension und anschließende Homogenisation wie
in Beispiel 1. Homogenisationsparameter: 1500 bar, 1 bis 10
Zyklen. Die Darstellung des mittleren PCS - Durchmessers gegen
die Zyklenzahl in Figur 5 ergibt einen fast minimalen Durchmesser
der Nanosuspension nach 7 Zyklen, 780 nm. Um die Abnahme der
15 Partikel auch im Größenbereich von 1 µm bis zu mehreren µm als
Funktion der Zyklenzahl zu verfolgen, wurden die Proben im LD
untersucht. Die Auswertung erfolgte über einen Auftrag des
Durchmesser 99% gegen die Zyklenzahl (Figur 6) Hier wird
ebenfalls nach ca. 7 Zyklen fast der minimale Durchmesser der
20 Nanosuspension erzielt. Durchmesser 99% bedeutet, daß 99% der
Partikel kleiner als dieser Wert sind (Volumenverteilung!, nicht
Anzahlverteilung). Dieser Durchmesser ist ein sensibles Maß für
die Reduzierung des Anteils an Mikrometerpartikeln. Nach 10
Zyklen ist auch hier die Grenzdispersität erreicht, 99 % der
25 Teilchen sind < 3,87 µm, 100% sind < 5,29 µm.

Das Dispergier- und Mahlverhalten bei der Herstellung und die
dabei erzielbaren Teilchgrößen sind bei Tween 80 und Phospholipon
ähnlich.

- 30 Das Laser Diffraktometer liefert nur relative Verteilungen. Um
die Injizierbarkeit von Nanosuspensionen zu beurteilen, wurden
daher absolute Partikelzahlen pro Volumeneinheit Suspension mit
dem Coulter counter bestimmt (vergl. Beispiel 6).

Beispiel 6Herstellung einer 9%igen Nanosuspension mit RMKP 22/Tween 80 - Anteil an Partikeln im Mikrometerbereich und Beurteilung der i.v. Injizierbarkeit:

5

Das Laser Diffractometer liefert nur relative Verteilungen. Um die Injizierbarkeit von Nanosuspensionen zu beurteilen, wurden daher von den in Beispiel 4 hergestellten Nanosuspensionen die absolute Partikelzahlen pro Volumeneinheit Suspension mit dem
10 Coulter counter Multisizer II bestimmt. Charakterisierungsparameter ist die Anzahl der Partikel $> 5 \mu\text{m}$ pro μl Nanosuspension. In Abbildung 7 wurden vergleichend die Anzahl der Partikel $> 5 \mu\text{m}$ pro μl Originalprobe der Nanosuspension A (9 % RMKP 22, 0,3% Tween 80, 16,7 % Mannitol, Aqua ad 100 Gew.%, Figur 7 Probe A)
15 und der Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung (Lipofundin 10% und Intralipid 20%, Figur 7 Lipol10 und Intra20) dargestellt. Weiterhin wurden Proben untersucht, deren Anzahl der Partikel $> 5 \mu\text{m}$ durch einen Zentrifugationsschritt gesenkt wurden. Die Nanosuspension B wurde 30 min bei 1559 g, die Nanosuspension C 30 min
20 bei 3056 g zentrifugiert (Figur 7: Probe B und Probe C).

Die Anzahl der Partikel im Mikrometerbereich liegt bei den zur i.v. Infusion zugelassenen Emulsionen (Infusionsvolumen $> / = 500 \text{ ml p.d.}$) und der Nanosuspension A (Injektionsvolumen ca. 1-20 ml)
25 bei 2,9 - 3,3 mg/ml. Gezielte Abscheidung von Partikeln $> 5 \mu\text{m}$ durch Zentrifugation kann deren Anzahl bei den Nanosuspensionen B und C um ein Mehrfaches unter die Werte der Emulsionen auf 1,5 mg /ml senken (Figur 7: Probe B und Probe C, Probe A bei 1559 g bzw. 3056 g über 30 min zentrifugiert.).

30

Beispiel 7Vergleich der Sättigungslöslichkeit von Mikropartikeln und Nanosuspensionen

35 Die Bestimmung der Sättigungslöslichkeit Csm der Mikropartikel des luftstrahlgemahlenem Arzneistoffes RMKP 22 (Durchmesser 3,64

µm) erfolgte durch Schütteln sowohl in Wasser als auch in einer 0,3% iger Tween/16,7 %iger wäßriger Mannitlösung über 7 Tage. Nach 7 Tagen war ein Löslichkeitsplateau erreicht. Für beide Medien wurde eine identische Sättigungslöslichkeit gefunden, was Solubilisierungseffekte für den Wirkstoff ausschließt. Die Bestimmung der Sättigungslöslichkeit C_{sm} in zwei RMKP 22 - Nanosuspensionen (Durchmesser 800 nm und 300 nm) erfolgte im Dispersionsmedium (Tween 80/Mannitlösung) nach Abzentrifugieren der Feststoffphase. In der Figur 8 sind die Sättigungskonzentrationen von luftstrahlgemahlen RMKP 22 - Mikropartikeln (Probe MP, Durchmesser 2,40 µm) sowie von zwei RMKP 22 - Nanosuspensionen (Probe NS 800 nm, Probe NS 300 nm, mittlerer Durchmesser: 800 und 300 nm) gegenübergestellt. Die Sättigungslöslichkeit C_{sm} der Mikropartikel liegt bei 1,97 mg/l und wird erst nach dreitägigem Schütteln erreicht. Dies bedeutet, daß sich der Arzneistoff sehr langsam auflöst. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der Sättigungslöslichkeit der beiden Pulver detektiert. Die Sättigungslöslichkeit der Nanosuspension wurde analog 7 Tage nach Herstellung bestimmt und ergab Werte von 3,29 mg/l und 3,52 mg/l. Eine Erhöhung der Sättigungslöslichkeit mit abnehmender Teilchengröße ist in der Gleichung von Ostwald-Freundlich beschrieben, wobei die gemessenen Werte jedoch nicht nur auf eine reine Vergrößerung der Oberfläche zurückgeführt werden.

25 Beispiel 8

Auflösungsverhalten von Nanosuspensionen im Vergleich zu Mikropartikeln:

Grundrezeptur Nanosuspension:

30	RMKP 22	9,0
	Tween 80	0,3
	Mannit	16,7
	Aqua dest	ad 100

35 Die Auflösung von Partikeln läßt sich mit einem Coulter counter bestimmen. Nach Einbringen von wenigen µl Partikelsuspension in

das Meßvolumen von 100 ml kommt es bei löslicher Substanz im Laufe von drei aufeinanderfolgenden Wiederholungsmessungen zu einem Auflösen der Partikel, die Volumenkurve von Messung 1 bis 3 nimmt ab. Um Auflöseprozesse zu verhindern, mißt man bei
5 derartigen Substanzen in einer mit Substanz gesättigter NaCl Lösung.

Zur Herstellung einer mit Arzneistoff gesättigten Lösung wurde die 0,9% NaCl - Lösung mit luftstrahlgemahlenem Arzneistoff im
10 Überschuß versetzt und durch Schütteln wurde die Sättigungs- löslichkeit der Mikropartikel Csm erreicht. Die gesättigte Arzneistofflösung wurde gezielt nicht mit grobkristallinem sondern mit Arzneistoff-Mikropartikeln hergestellt, damit sich nach Ostwald - Freundlich auch die höhere Sättigungskonzentration
15 Sättigungslöslichkeit über diesem feindispersen System einstellt.

Das Einbringen von luftstrahlgemahlenen RMKP 22 Arzneistoffpartikeln, d. h. Partikeln mit einem Durchmesser 3,64 μm , in diese mit Arzneistoff gesättigte 0,9% NaCl Lösung führte demzufolge
20 innerhalb der Meßzeit von ca. 10 Minuten (drei Wiederholungsmessungen a 150 s im Abstand von 100 s) zu keinerlei Auflösungserscheinungen, die drei nacheinander erhaltenen Meßkurven sind deckungsgleich (Figur 9). Das Gesamtvolumen der Partikel einer Probe beträgt während der ersten Messung 393.000 μm^3 , während der
25 zweiten Messung 391.400 μm^3 und dann 386.500 μm^3 (Figur 9). Das Gesamtvolumen der Partikel bleibt über den Zeitraum des Meßzyklus konstant.

Das Vermessen der Nanosuspension, d. h. Partikeln in Nanometergröße, führte - trotz mit Arzneistoff gesättigter 0,9% NaCl-Lösung - zu einem Auflösen der Partikel innerhalb der Meßzeit von ca. 10 min, es lösten sich 65 % der Partikel auf. Die Coulter counter Volumenverteilung der Nanosuspension bei drei aufeinanderfolgenden Messungen (Start der Messung zu den Zeiten: T = 0s,
35 T = 450 s, T = 1100 s, Dauer einer Messung: 150 s) ergibt ein Gesamtvolumen der Partikel während der ersten Messung von 121.000

- 27 -

μm^3 , während der zweiten Messung von $83762 \mu\text{m}^3$ und während der dritten Messung einen Wert von $42038 \mu\text{m}^3$ (Figur 10). Die abnehmende Fläche unter der Volumenverteilungskurve ist ein Maß für das Auflösen der Nanosuspension.

5

Eine über den Zeitraum eines Coulter counter Meßzykluses beobachtete Abnahme des Gesamtvolumens der Partikel einer Probe dokumentiert das Auflösungsverhalten der Nanopartikel im gewählten Meßmedium und zeigt das konstante Verhalten der
10 mikronisierten Partikel im gleichen Meßmedium.

Beispiel 9

Langzeitstabilität von Nanosuspensionen

15 Grundrezepturen:

- A. 9% RMKP 22, 0,3% Tween 80, 16,7%, Mannit, Aqua dest ad 100%
- B. 9% RMKP 22, 1% Tween 80, 16,7%, Mannit, Aqua dest ad 100%
- C. 9% RMKP 22, 0,6%, Phospholipon 90%, Aqua dest. ad 100%

20 Die Herstellung der Rezepturen erfolgte wie in Beispiel 1 beschrieben, Homogenisationsparameter: 1500 bar, 10 Zyklen. Analytik mit der PCS (Hauptdurchmesser) und mit dem Laser Diffractometer (Durchmesser 99% und 95%).

25 Die PCS Durchmesser und die dazugehörigen Polydispersitätsindices der gelagerten Nanosuspensionen betrugen:

Charge A	740 nm	0,259
Charge B	719 nm	0,282
Charge C	286 nm	0,310.

30

Durchmesser und Polydispersitätsindices zeigten keine signifikante Änderung der Partikelgrößenverteilung während der Lagerzeit. Auch die LD - Durchmesser 99% (Figur 11) und 95% (Figur 12) der Nanosuspensionen A, B und C bleiben über eine Lagerzeit von 8
35 Wochen (w8) im Vergleich zu den Durchmessern am Herstellungstag (d_0) konstant.

Beispiel 10Stabilität von Nanosuspensionen bei der Sterilisation: Autoklavieren A1215 **Zusammensetzung der Stammsuspension A:**

3% RMKP 22, 0,3% Tween 80, 16,7% Mannitol, Aqua dest ad 100 Gew%. Zur Sterilisation wurde die Stammsuspension A auf Arzneistoff-Anwendungskonzentrationen und damit auf die Tensidkonzentrationen von 1% (Figur 13: A 1 + 2) und auf 0,3% (Figur 13: A 1 + 9) mit Aqua dest. verdünnt. Die Sterilisation erfolgte mit gespanntem Dampf im Autoklaven nach dem Deutschen Arzneibuch, 10. Ausgabe (15 Minuten, 121° C bei 2 bar). Die Partikelanalytik erfolgte mit dem Coulter counter und mit der PCS.

15

Die Figur 13 zeigt die Coulter Counter Ergebnisse von der Stammsuspension A (Figur 13: Stammsuspension A), von den Nanosuspensionen A 1+2 und A 1+9 vor der Sterilisation (Figur 13: A 1 + 2 / 9, vor Sterilisation) und nach der Sterilisation (Figur 13: A 1 + 2 / +9, autoklaviert). Als Vergleich sind die Anzahl der Partikel > 5µm pro µl in Lipofundin 10% (Figur 13: Lipofundin 10%) herangezogen worden.

25 PCS - Daten ergeben den Partikelhauptdurchmesser der Stammsuspension A sowie die Hauptdurchmesser der Nanosuspensionen A 1+2 und A 1+9 nach dem Autoklavieren (Figur 14: A 1 + 2 / +9, autoklaviert).

30 Die Anzahl der Partikel größer 5 µm stieg infolge der Temperaturbelastung der Nanosuspensionen und dadurch entstehender Aggregatbildung an. In der mit 2 Teilen Wasser verdünnten Nanosuspension A 1+2 erhöhte sich die Anzahl an Partikeln > 5 µm über den Wert der höher konzentrierten, nicht sterilisierten Stammsuspension A, blieb jedoch noch deutlich unter den Werten der 35 Fettemulsionen. Verdünnung mit 9 Teilen Wasser senkte die Wahrscheinlichkeit der Kollision zweier Partikel durch die

Verringerung der Partikelkonzentration so stark, daß ein signifikanter Anstieg in der Anzahl an Partikeln vor und nach Sterilisation nicht mehr detektierbar war. Die Durchmesser erhöhten sich beim Autoklavieren um 98 nm bzw 91 nm (A 1+2 / A 1+9), was die i.v. Injizierbarkeit nicht beeinträchtigt (Figur 14).

Beispiel 11

10 Stabilität von Nanosuspensionen bei der Sterilisation: Gamma-Sterilisation

Zusammensetzung der Nanosuspensionen A und B:

15 Nanosuspension A: 2% RMKP, 0,3% Tween 80, 16,7% Mannitol, Aqua dest ad 100 Gew%.

Nanosuspension B: 3% RMKP, 0,3% Tween 80, 16,7% Mannitol, Aqua dest ad 100 Gew%.

20 Die Nanosuspensionen A und B wurden mit einer Kobalt-60 Quelle und einer Dosis von 2,5 Mrad (25 kGray) sterilisiert. Die Analytik erfolgte mit dem Coulter counter Multisizer II und der PCS.

Die Anzahl an Partikeln > 5 µm pro µl der Nanosuspensionen A und 25 B vor der Sterilisation und nach der Sterilisation (Figur 15: : Ns A, Ns B / Ns A, gamma-steril., Ns B, gamma-steril.) werden mit dem Coulter counter erfaßt (Figur 15). Als Vergleich dienen die Partikelanzahlen in Lipofundin 10% und Intralipid 20%:

12.176 und 22.525 Partikel > 5 µm pro µl Emulsion.

30

Die PCS Partikeldurchmesser der Nanosuspensionen A und B vor (NS A / NS B) und nach der Sterilisation (NS A, gamma-steril., NS B, gamma-steril.) sind in der Figur 16 aufgeführt.

35 Es kam zu einer moderaten Erhöhung der Partikel > 5 µm bei der Sterilisation, bei der Nanosuspension A von 890 auf 1222, bei der

Nanosuspension B von 60 auf 165, wobei die Anzahlen deutlich auch nach der Sterilisation noch unterhalb der Werte in den Fette-mulsionen bleiben. Der PCS Durchmesser steigt bei der Nanosuspension A nicht an (303 nm vor, 299 nach Sterilisation), bei Nanosuspension B geringfügig (von 306 auf 367 nm). Die Partikeldurchmesser bei parenteralen Fette-mulsionen bewegen sich im Bereich von ca. 200 bis 400 nm.

Beispiel 12

10 Stabilität von Nanosuspensionen bei der Sterilisation als Funktion der Tensidkonzentration

Nanosuspensionen aus RMKP, stabilisiert mit unterschiedlichen Tween 80 Konzentrationen, wurden mit Al21 sterilisiert und mit dem
15 Laser Difraktometer bezüglich Teilchenwachstum analysiert (Figur 17). Zusammensetzung der Nanosuspensionen:

- A. 1,0% Tween, 9% RMKP, Mannit 16,7%
- B. 0,30% Tween, 9% RMKP, Mannit 16,7%
- 20 C. 0,10% Tween, 0,9% RMKP, Mannit 16,7%
- D. 0,03% Tween, 0,9% RMKP, Mannit 16,7%

Die Rezepturen enthielten jeweils Aqua dest. ad 100 Gew%, die Nanosuspensionen C und D wurden aus der Stammsuspension B durch
25 Verdünnen auf Gebrauchskonzentration hergestellt. Bei der Nanosuspension C wurde nach dem Verdünnen Tween 80 zugesetzt, um auf 0,10% einzustellen.

Als Charakterisierungsgrößen für das Teilchenwachstum dienen die
30 LD - Durchmesser 99% und 90% von Nanosuspensionen mit unterschiedlicher Tween 80 Konzentration vor und nach dem Autoklavieren (Figur 17: n. ak / ak.). Daten von der Nanosuspension B (Figur 17: B, 0,3% Tween 80 n.ak) sind die Ausgangswerte der Suspensionen C und D vor dem Autoklavieren (Figur 17).

Die Nanosuspension mit 1% Tween 80 zeigte nach dem Autoklavieren bereits makroskopische sichtbare Aggregate und wurde daher nicht mehr mittels des Laser Diffractometers untersucht. Überraschenderweise zeigten die Nanosuspensionen mit abnehmender Tensidkonzentration eine höhere Stabilität.

Beispiel 13

Tensidfreie Nanosuspensionen mit Carbamazepin

10	<u>Grundrezeptur:</u> Carbamazepin	1,0
	Natriumcarboxymethylcellulose	0,1
	Aqua dest	ad 100,0

15 Natriumcarboxymethylcellulose wurde in Wasser gelöst und der gepulverte Wirkstoff damit in einer Reibschale angerieben. Der Ansatz wurde 2min im Ultraturrax dispergiert. Diese grobe Vordispersion wurde dann mit 1500 bar und 5 Zyklen homogenisiert.

20 Kenndaten der Nanosuspension: 436 nm Durchmesser
0,263 Polydispersitätsindex

Beispiel 14

Tetracain Nanosuspension hergestellt mit Scher- und Pralldispersion (jet stream)

25	<u>Grundrezeptur:</u>	Tetracain Base	1,0
		Lecithin S 75	0,3
		Pluronic F68	2,2
		Glycerol 85%	2,2
30		Aqua dest.	ad 100,0

35 Tetracain Base wird mit der Pluronic Lösung angerieben und anschließen mit einem Druck von 600 bar und in 5 Zyklen durch den Microfluidizer Modell 110 - Y (Microfluidics Inc.) gegeben. Es wurde mit diesem Dispergierprinzip ebenfalls eine Nanosuspension erhalten.

Kenndaten der Nanosuspension: 379 nm Durchmesser
0,529 Polydispersitätsindex

Beispiel 155 **Tetracain Nanosuspension < 100 nm hergestellt mit Kavitation**

<u>Grundrezeptur:</u>	Tetracain Base	1,0
	Pluronic F68	2,2
	Lecithin S75	0,3
10	Glycerol 85%	2,2
	Aqua dest ad 100,0	

Die Herstellung erfolgte wie in Beispiel 1 beschrieben, Homogeni-
sationsparameter: 1500 bar und 10 Zyklen. Analytik wurde mit PCS
15 vorgenommen.

Kenndaten der Nanosuspension: 91 nm Durchmesser
0.489 Polydispersitätsindex

20 Durch die spezielle Zusammensetzung der Rezeptur (niedrige
Konzentration der dispersen Phase) wurden Nanosuspensionen mit
einer Partikelgröße unter 100 nm erhalten, die ein potentiell
System für das Targeting z.B. zu Endothelzellen der Blutkapilla-
ren sind (Partikelaufnahme erfolgt hier durch Pinocytose, die auf
25 Partikel < 150 nm beschränkt ist).

Beispiel 16**Prednisolon Nanosuspension < 100 nm hergestellt mit Kavitation**

30	<u>Grundrezeptur:</u>	Prednisolon	1,0
		Pluronic F68	2,2
		Lecithin S75	0,3
		Glycerol 85%	2,2
		Aqua dest ad 100,0	

Die Herstellung erfolgte wie in Beispiel 1 beschrieben, Homogenisationsparameter: 1500 bar und 10 Zyklen. Analytik wurde mit PCS und Laser Diffraktometer (LD) vorgenommen.

- 5 Kenndaten der Nanosuspension: .897 nm Durchmesser
 0,040 Polydispersitätsindex
 3,80 Durchmesser 95% (LD)
 4,74 µm Durchmesser 99% (LD)

Patentansprüche

1. Arzneistoffträger, der Teilchen aus in Wasser unlöslichem oder nur wenig löslichem reinen Wirkstoff oder aus einem Gemisch von 2 oder mehr Wirkstoffen umfaßt, die bei Raumtemperatur fest sind und einen mit Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) bestimmten mittleren Durchmesser von 10 nm bis 1000 nm aufweisen, wobei der Anteil an Partikeln größer als 5 µm in der Gesamtpopulation kleiner als 0.1% ist (Anzahlverteilung ermittelt mit Coulter counter).
2. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoff bei Einbringung in Wasser oder wäßrige Flüssigkeiten eine im Vergleich zu Pulvern des Arzneistoffes erhöhte Sättigungslöslichkeit und eine erhöhte Lösungsgeschwindigkeit aufweist.
3. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Teilchen der Hauptpopulation einen mittleren Durchmesser zwischen 40 und 1000 nm, insbesondere von 100 bis 800 nm, und bei geeigneter Verfahrensparameter- und Hilfsstoffauswahl zwischen 40 und 100 nm aufweisen.
4. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie durch Anwendung von Kavitation hergestellt werden (z.B. Kolben-Spalt-Homogenisator).
5. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie alternativ zu Anspruch 4 durch Anwendung von Scher- und Prallkräfte (z.B. jet stream Prinzip) hergestellt werden.
6. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie unter Ausschluß von Tensiden (tensidfrei) oder unter Verwendung von synthetischen, halbsynthetischen oder natürlichen Tensiden (z.B. Lecithin oder natürlichem,

aufgereinigtem (fraktionierten) Lecithin) - einzeln oder in Mischung miteinander - in Konzentrationen von 0,001 - 30%, und insbesondere in sehr geringer Konzentration (< 1,0%, besonders < 0.5%), oder von Tensiden in Mischung mit einem oder mehreren anderen Stabilisatoren hergestellt werden.

7. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie unter Ausschluß der Verwendung von organischen Lösungsmitteln hergestellt werden.
8. Träger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie ohne Verwendung von Ultraschallstäben, Kugel- oder Perlmühlen hergestellt werden.
9. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der inneren oder Arzneistoffphase bezogen auf die Grundrezeptur 0,1 bis 30 Gew. % und insbesondere 1 bis 20 Gew.% beträgt.
10. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoffträger aus einem Wirkstoff oder Wirkstoffen besteht, die in Wasser oder wäßrigen Lösungen gering löslich oder unlöslich sind
11. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoffträger aus einem Wirkstoff oder Wirkstoffen besteht, die in organischen Lösungsmitteln gering löslich oder unlöslich sind.
12. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoffträger aus einem Wirkstoff oder Wirkstoffen besteht, die in Wasser oder wäßrigen Lösungen und in organischen Lösungsmitteln gering löslich oder unlöslich sind.

13. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Arzneistoffträger aus einem Wirkstoff oder Wirkstoffen besteht, die in Wasser oder wäßrigen Lösungen und/oder in organischen Lösungsmitteln eine mittlere Löslichkeit besitzen.
14. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß er außerdem eine oder mehrere dispersionsstabilisierende Substanzen umfaßt.
15. Träger nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß er bezogen auf die Grundrezeptur dispersionsstabilisierende Substanzen in einer Menge von 0,001 bis 20 Gew.% und insbesondere 0,01 bis 5 Gew. % umfaßt.
16. Träger nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, daß die stabilisierenden Substanzen Verbindungen aus der Reihe der Poloxamere, Poloxamine, ethoxylierten Mono- und Diglyceride, ethoxylierten Lipide und Lipoide, ethoxylierten Fettalkohole und Alkylphenole, ethoxylierten Fettsäureester, Polyglycerinether und -ester, Lecithine, Ester und Ether von Zuckern oder Zuckeralkoholen mit Fettsäuren oder Fettalkoholen, Phospholipide und Sphingolipide, Sterine, deren Ester oder Ether sowie deren Mischungen dieser Verbindungen umfassen.
17. Träger nach einem der Ansprüche 14, 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, daß die stabilisierende Substanz Eilecithin, Sojalecithin oder hydriertes Lecithin, deren Mischungen oder Mischungen aus einem oder beiden Lecithinen mit einer oder mehreren Phospholipidkomponenten, Cholesterin, Cholesterinpalmitat, Stigmasterin oder andere Sterine umfaßt.
18. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß er außerdem Ladungsstabilisatoren umfaßt.

19. Träger nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß er Ladungsstabilisatoren bezogen auf die Grundrezeptur in einer Menge von 0,01 bis 20 Gew.%, insbesondere 0.01 bis 2 Gew.% umfaßt.
20. Träger nach Ansprüchen 18 und 19, dadurch gekennzeichnet, daß die Ladungsstabilisatoren Dicetylphosphat, Phosphatidylglycerol, gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, Natriumcholat, Peptisatoren oder Aminosäuren umfassen.
21. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß er einen oder mehrere viskositätserhöhende Stoffe umfaßt.
22. Träger nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß er viskositätserhöhende Stoffe bezogen auf die Grundrezeptur in einer Menge von 0,1 bis 20 Gew.% und insbesondere 0,5 bis 5 Gew.% umfaßt.
23. Träger nach Anspruch 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, daß die viskositätserhöhenden Stoffe Celluloseether und -ester, Polyvinyllderivate, Polyvinylalkohol, Alginate, Xanthane, Pektine, Polyacrylate, Poloxamere und Poloxamine umfassen.
24. Träger nach einem der Ansprüche 21 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß er außerdem Zucker oder Zuckeralkohole, insbesondere Glucose, Mannose, Trehalose, Mannit und Sorbit umfaßt.
25. Träger nach einem der Ansprüche 21 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß er außerdem Ladungsträger umfaßt.
26. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Teilchen in destilliertem Wasser oder einem wäßrigen Medium oder in einem wäßrigen Medium mit

Zusätzen aus Elektrolyten, Mono- und Disacchariden, Polyolen oder deren Mischungen dispergiert sind.

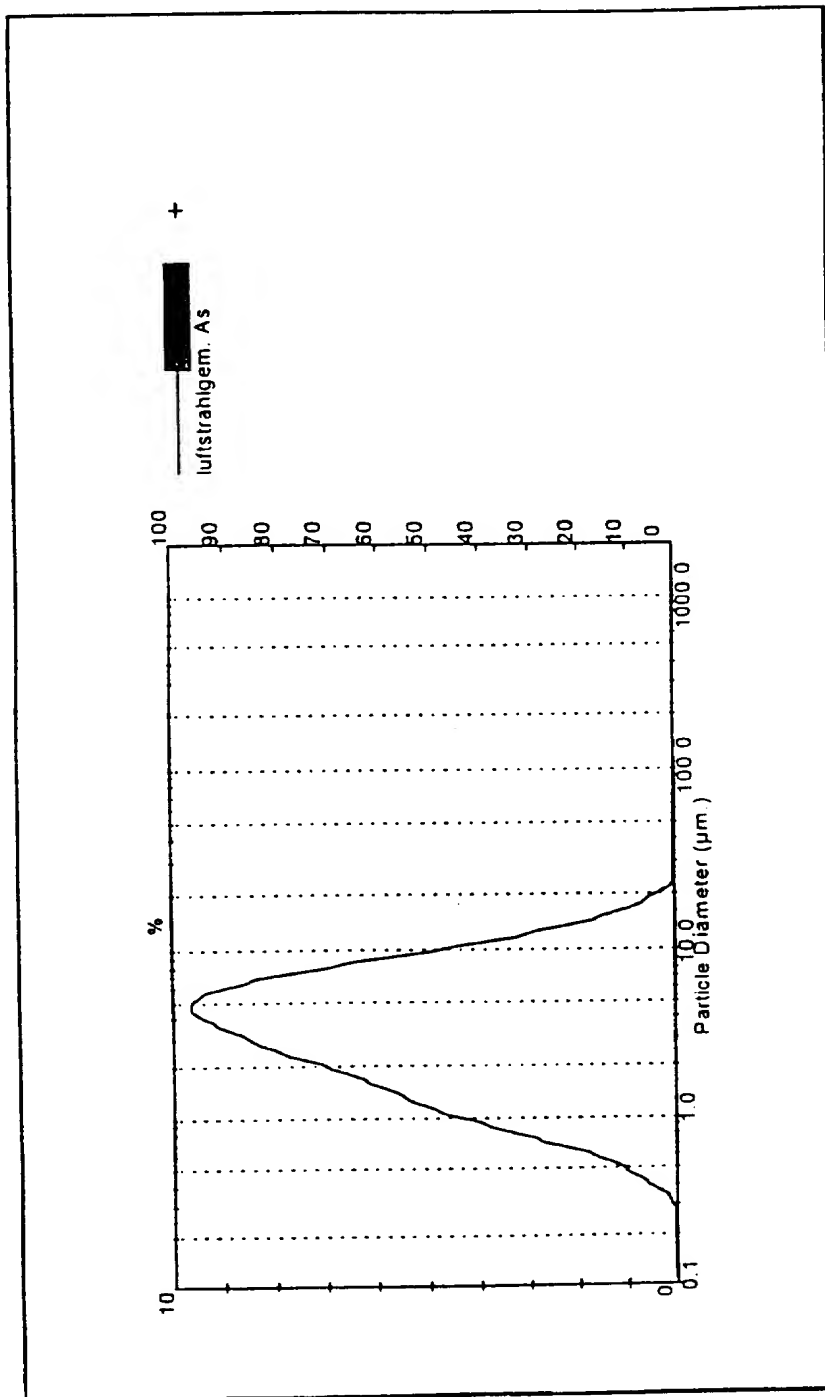
27. Träger nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusätze Natriumchlorid, Mannose, Glucose, Fructose, Xylose, Mannit, Sorbit, Xylit und Glycerin umfassen.
28. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Teilchen lyophilisiert oder sprühgetrocknet sind.
29. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß er aus einem oder aus mehreren Wirkstoffen besteht.
30. Träger nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß bei mehreren Wirkstoffen ein Wirkstoff oder mehrere Wirkstoffe in einem anderen oder mehreren anderen gelöst sind (sog. feste Lösung) oder dispergiert sind (sog. feste Dispersion), an deren Oberfläche adsorbiert sind oder als Lösung in dem Teilchen dispergiert sind.
31. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einem nichtwäßrigen Medium dispergiert sind.
32. Träger nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einem flüssigen, halbfesten oder festen Medium dispergiert sind.
33. Träger nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einem flüssigen öligen Medium wie Ricinusöl, Erdnußöl, Olivenöl, Neutralöl (Miglyol 812), Sesamöl, Maisöl, Baumwollsaamenöl, Mandelöl, Mittelkettige Triglyceride oder anderen Ölen dispergiert sind.

34. Träger nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß das Medium aus Lipiden oder Lipoiden oder deren Mischungen besteht
35. Träger nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß das Medium aus Mono-, Di-, Triglyceriden (z.B. Witepsole, Softisane), Wachsen, Fettalkoholen und Fettalkoholestern, Bienenwachs, Ölsäureoleylester, Isopropylmyristat, Wollwachs oder deren Mischungen besteht.
36. Träger nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß das Medium aus längerkettigen organischen Molekülen oder Polymeren, aus flüssigen, halbfesten oder festen Polyethylenglykolen, Poloxameren, Poloxaminen oder deren Mischungen besteht.
37. Verfahren zur Herstellung der Arzneistoffträger nach Ansprüchen 1 bis 4 und 6 bis 36,, dadurch gekennzeichnet, daß sie durch Kavitation erzeugt werden. Der Arzneistoff oder die Arzneistoffmischung werden zu einem Pulver gemahlen, in einem Dispersionsmittel (Wasser oder wäßriges Medium) dispergiert und mit Druck durch einen Spalt gepreßt, in dem es zur Kavitation kommt. Geräte zur Erzeugung der Kavitation sind z.B. ein Kolben-Spalt-Homogenisator (z.B. APV Gaulin, Lübeck, Germany) oder eine French Press (SLM Instruments, Urbana, Ill., USA).
38. Verfahren zur Herstellung der Arzneistoffträger nach Ansprüchen 1 bis 3, 5 bis 36, dadurch gekennzeichnet, daß sie durch Scher- und Prallkräfte erzeugt werden. Der Arzneistoff oder die Arzneistoffmischung werden zu einem Pulver gemahlen, in einem Dispersionsmittel (Wasser oder wäßriges Medium) dispergiert und anschließend naßgemahlen, d.h. in einem jet stream System (z.B. Microfluidizer, Microfluidics Corp., Newton Mass. 02164, USA; Nanojet, Nanojet Engineering GmbH, 44339 Dortmund, Germany).

- 40 -

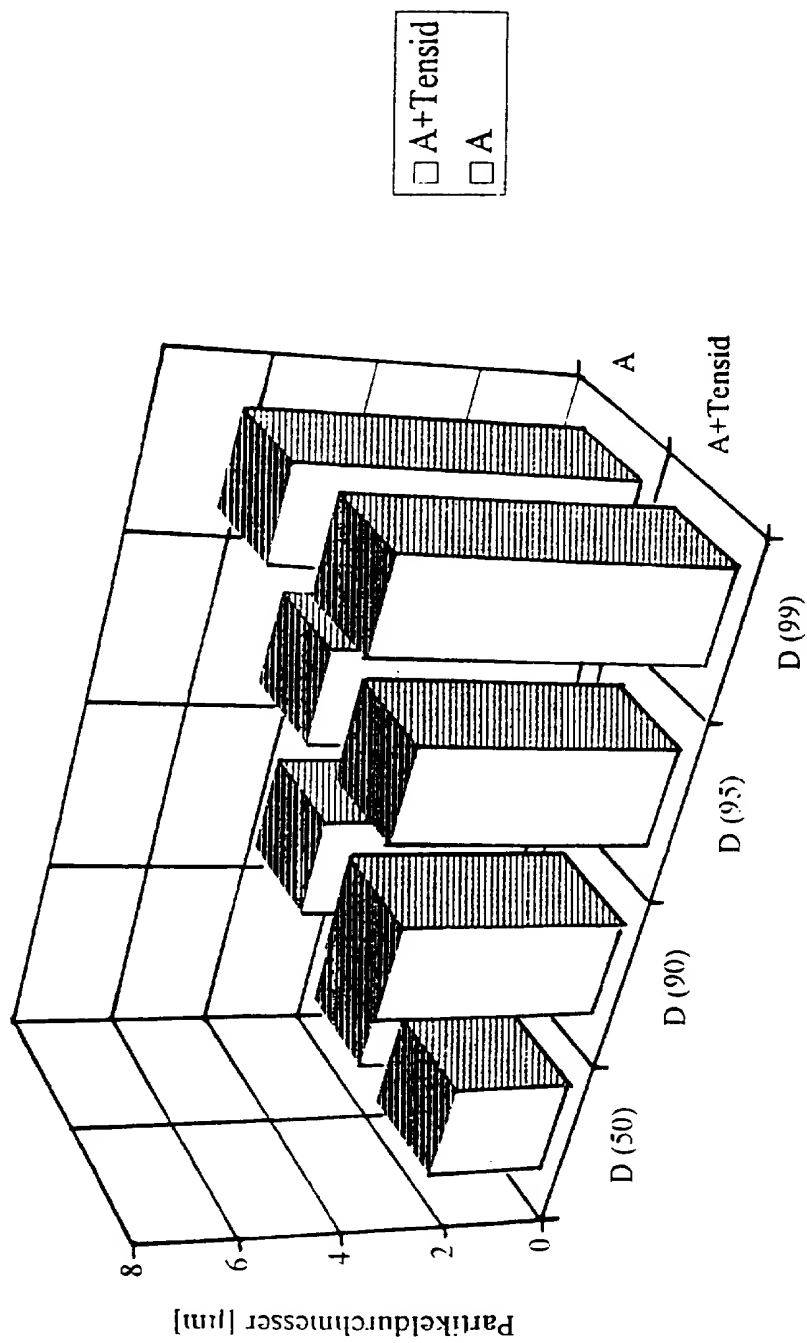
39. Verwendung des Arzneistoffträgers gemäß einem der Ansprüche 1 bis 38 zur Applikation von Arzneimittelwirkstoffen.

1/17



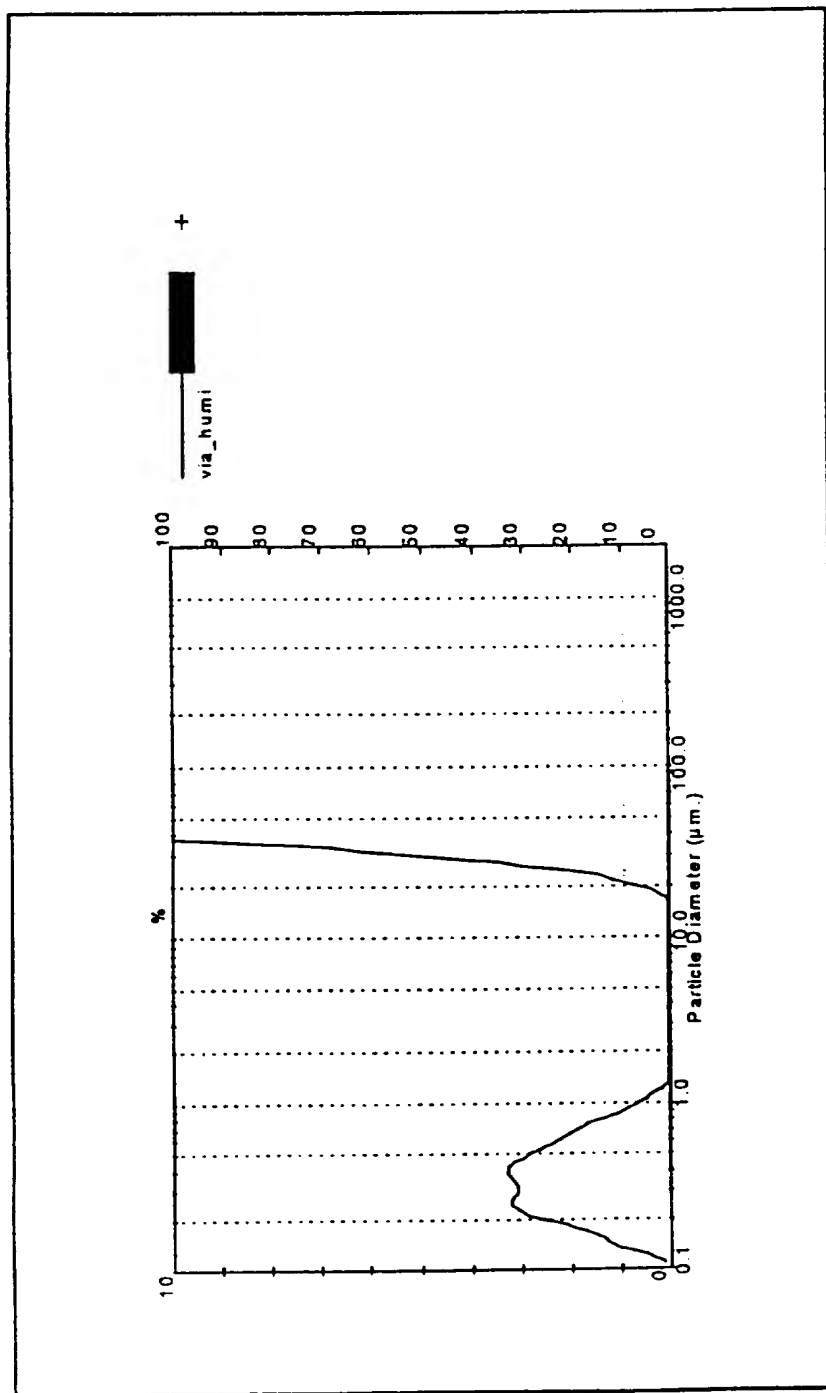
Figur 1

2/17



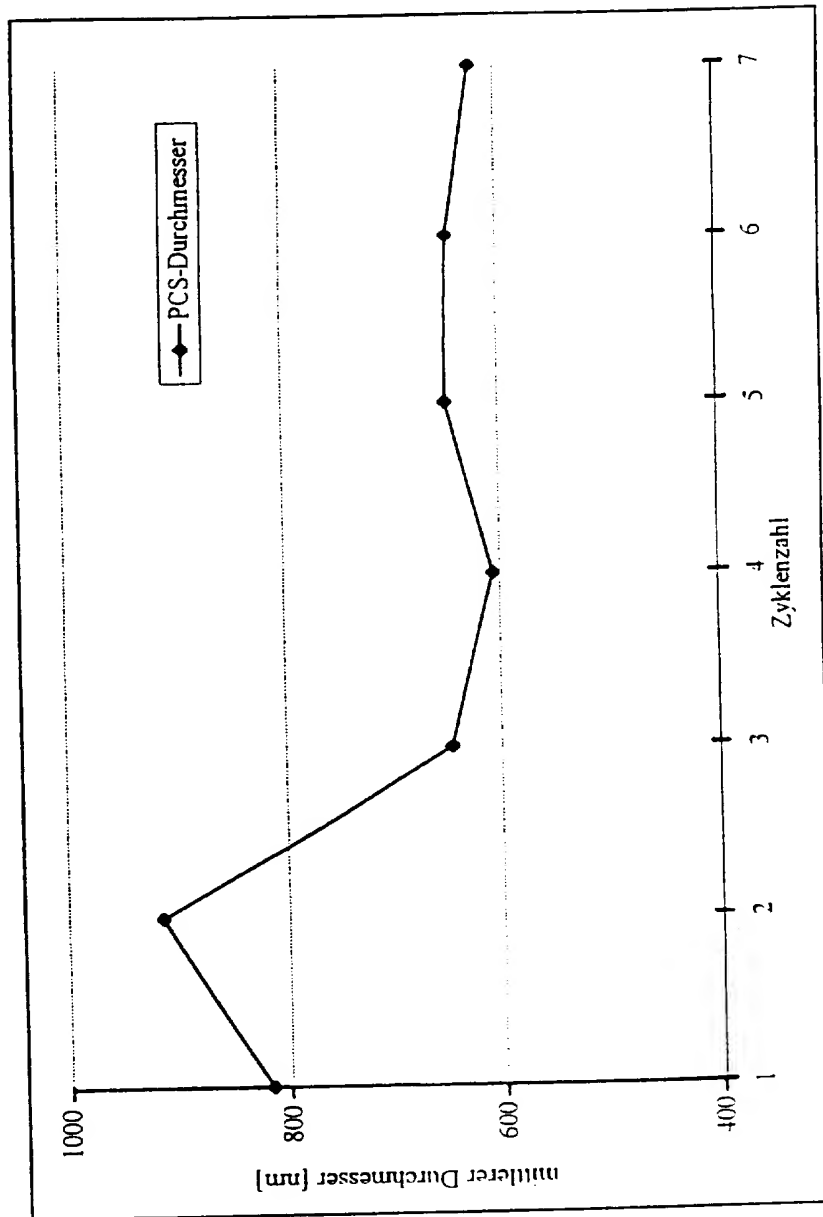
Figur 2

3/17

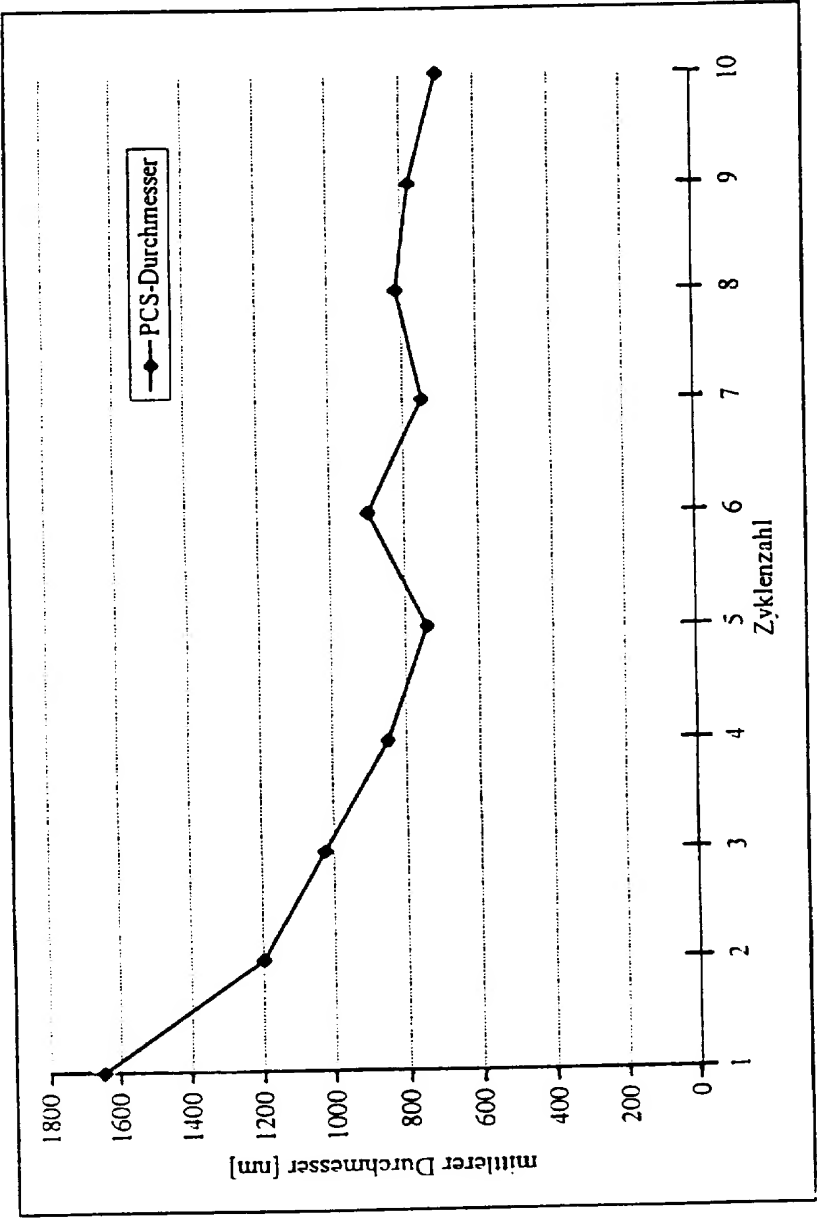


Figur 3

4/17

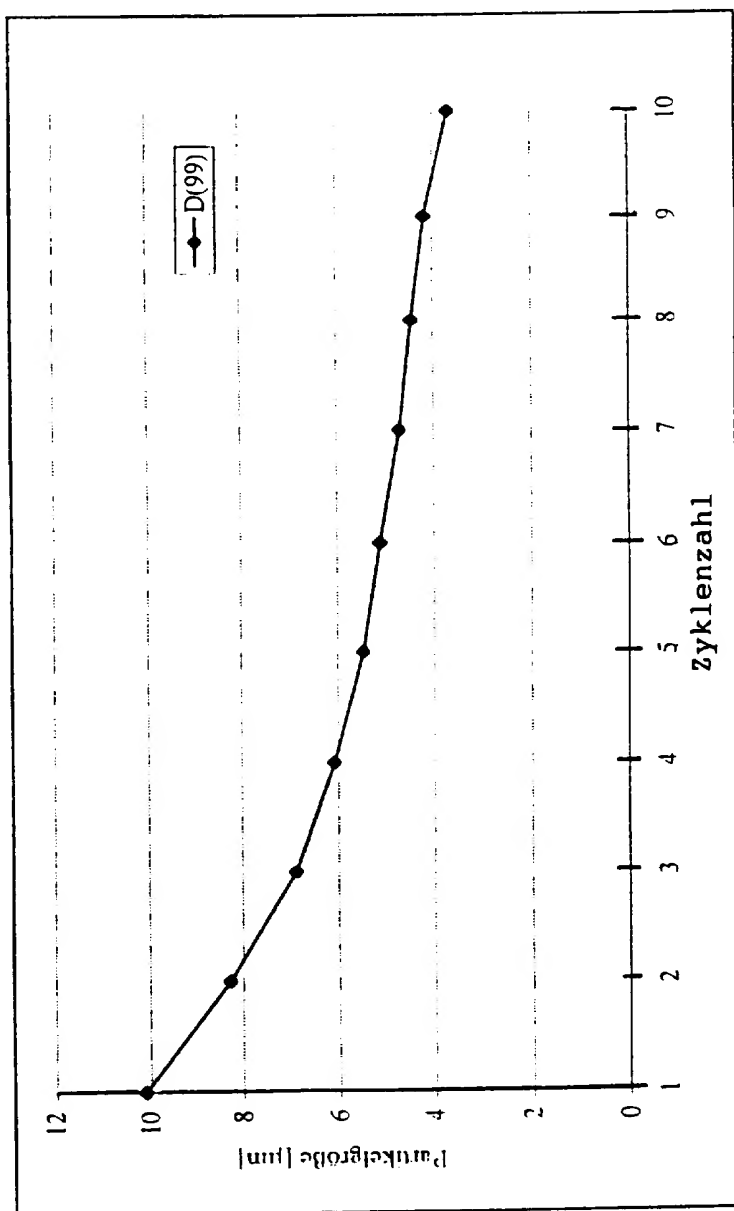


Figur 4



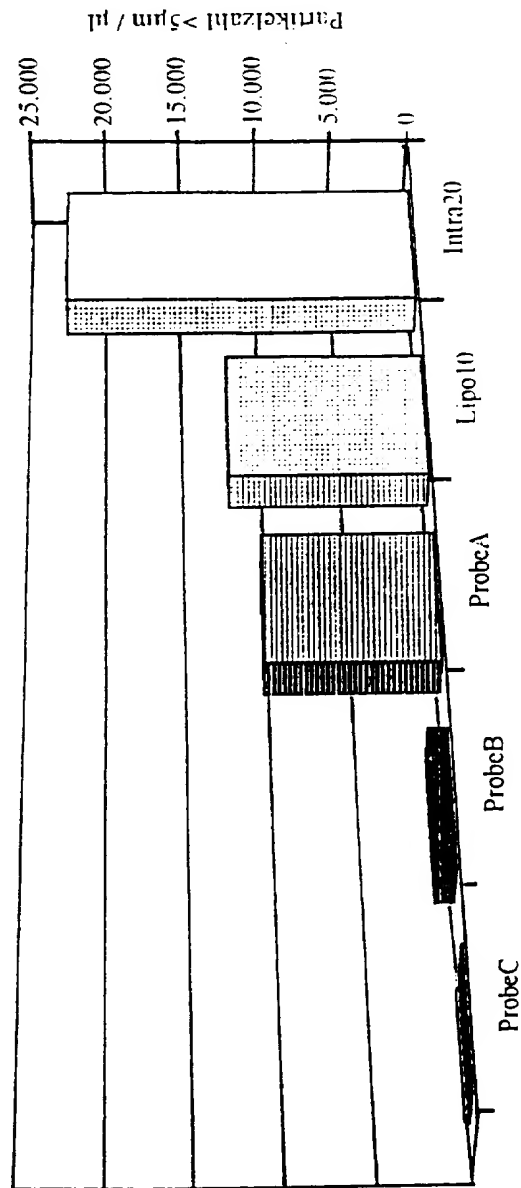
Figur 5

6/17



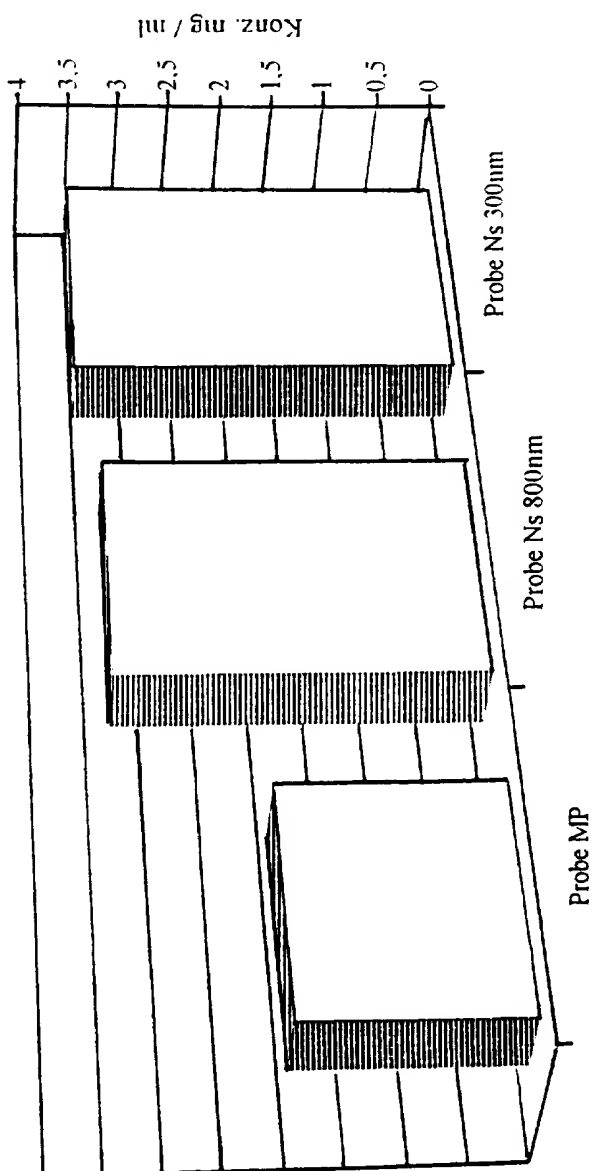
Figur 6

7/17



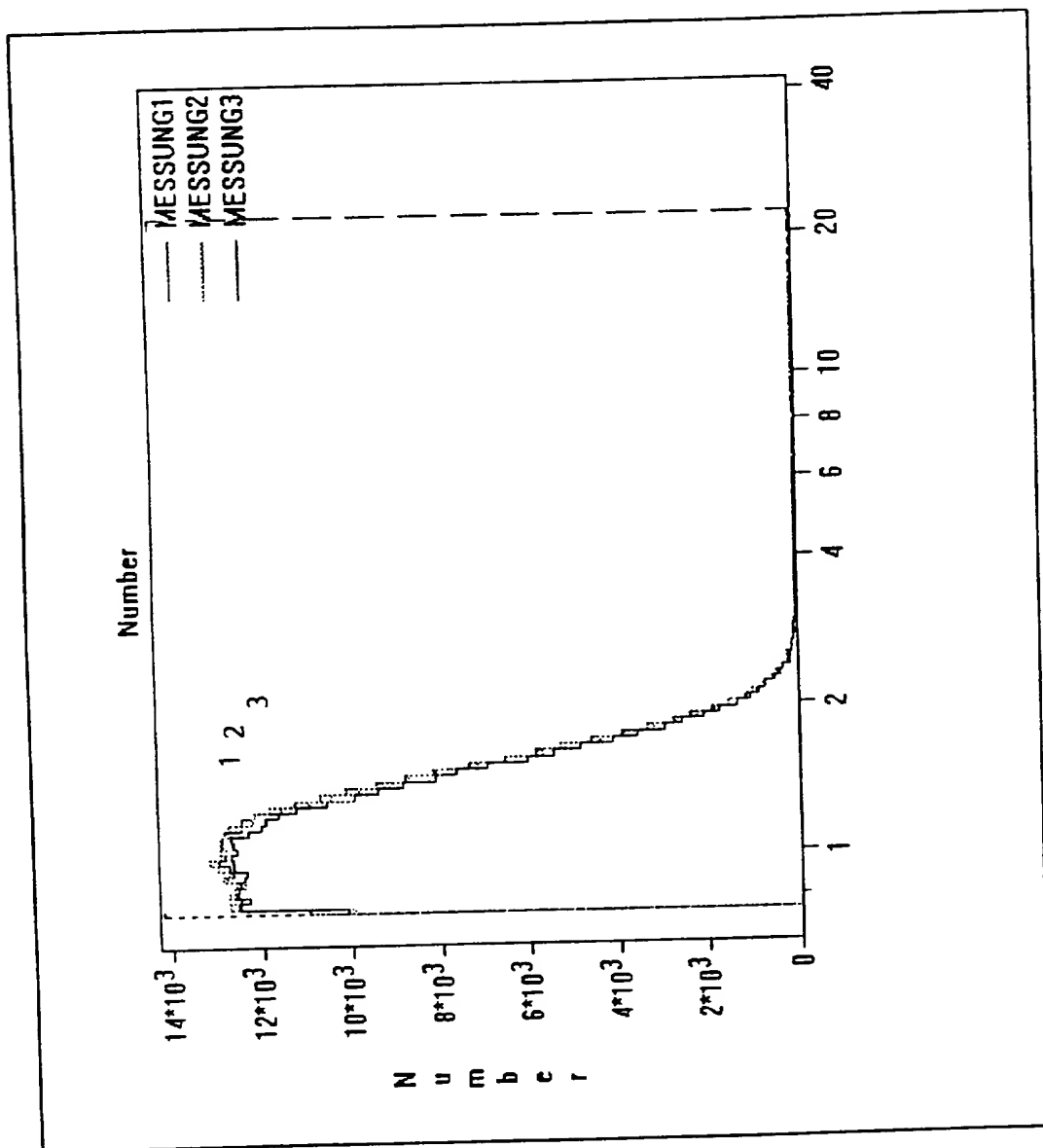
Figur 7

8/17



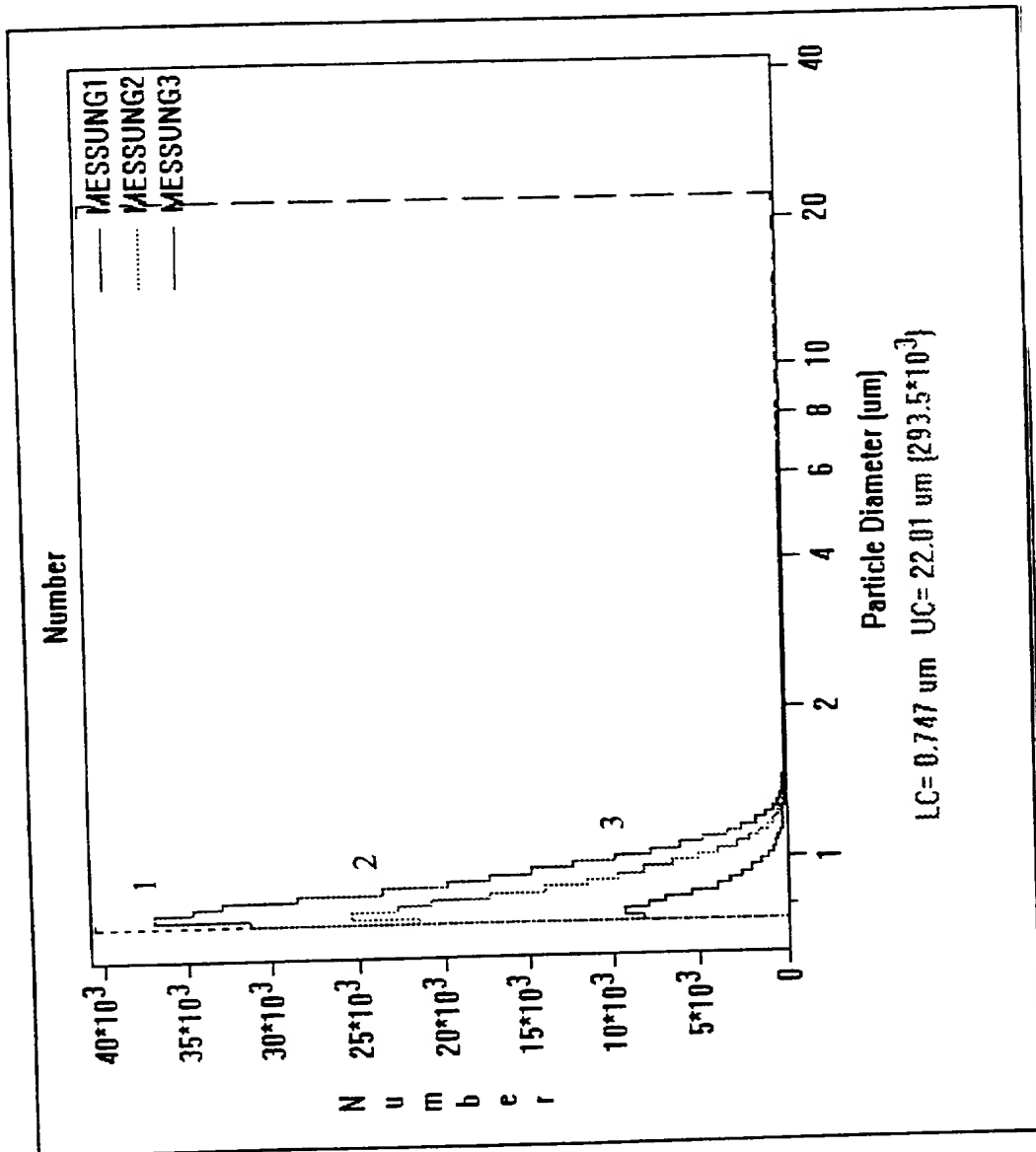
Figur 8

9/17



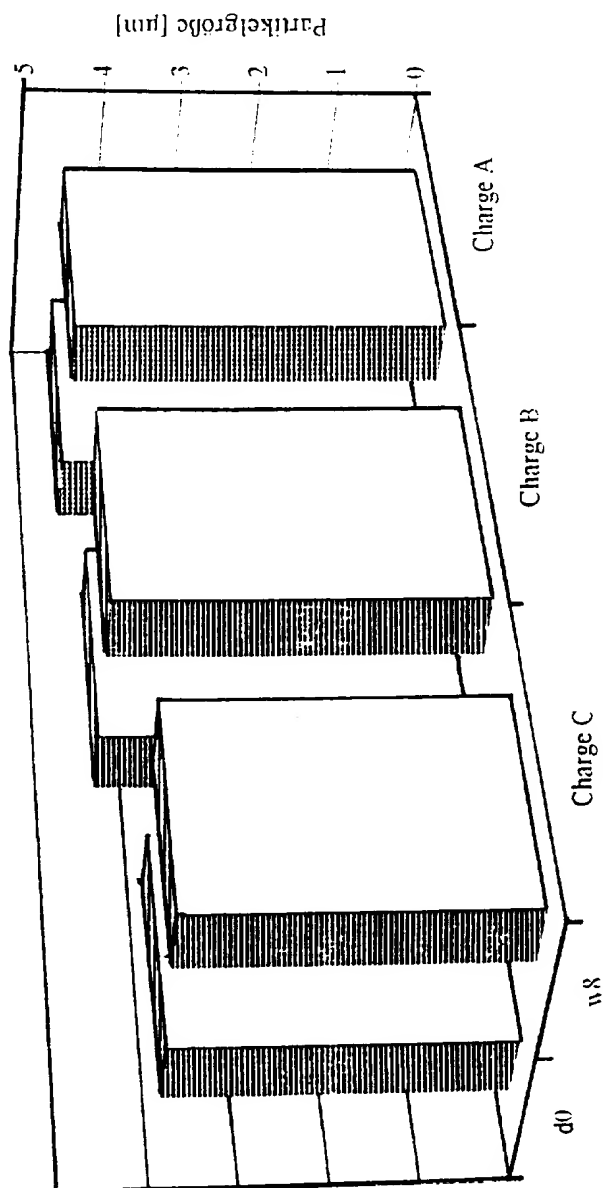
Figur 9

10/17



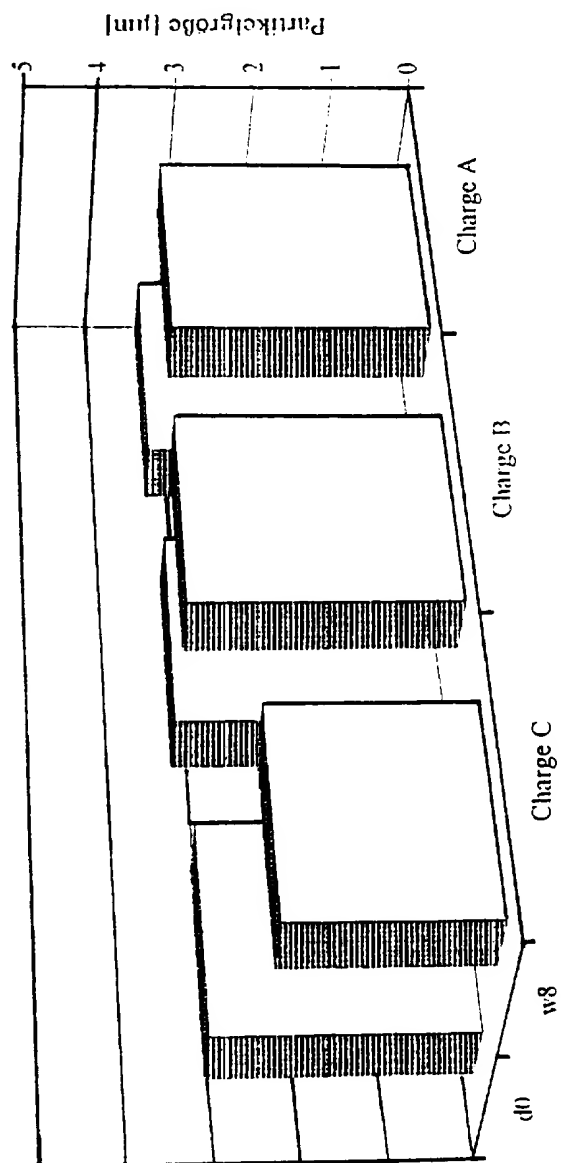
Figur 10

11/17



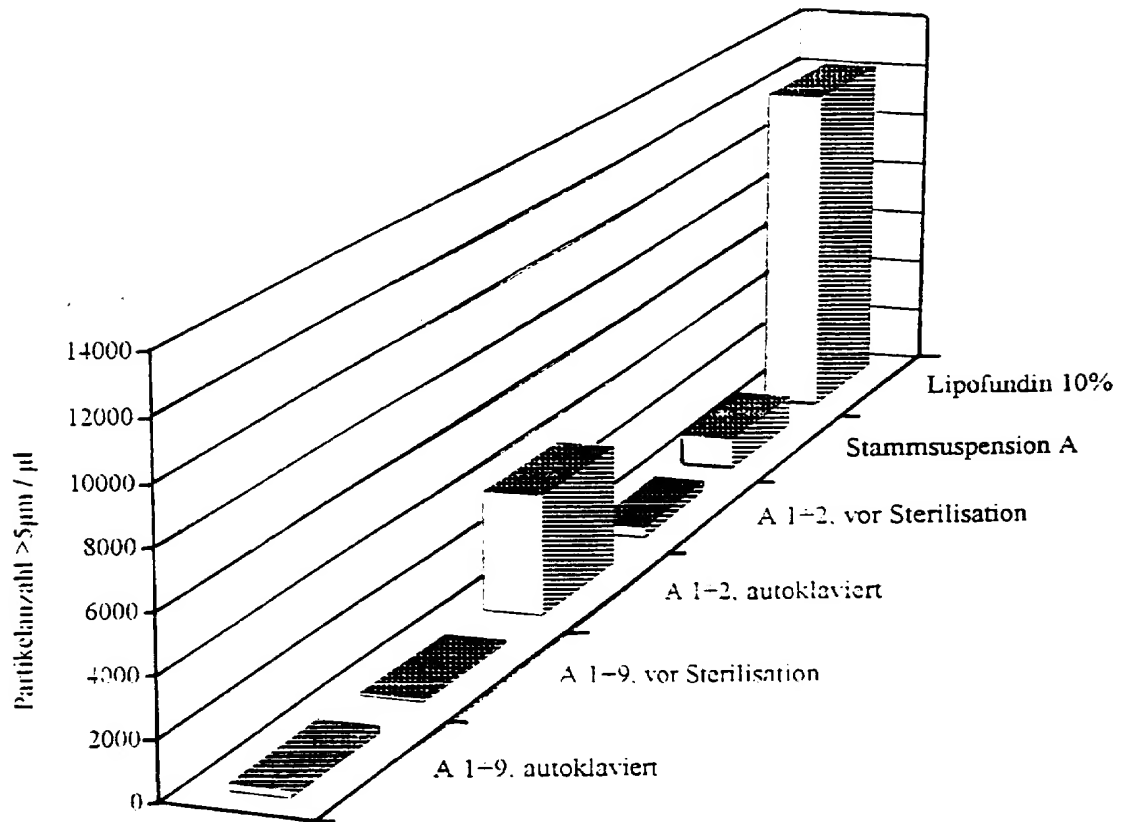
Figur 11

12/17



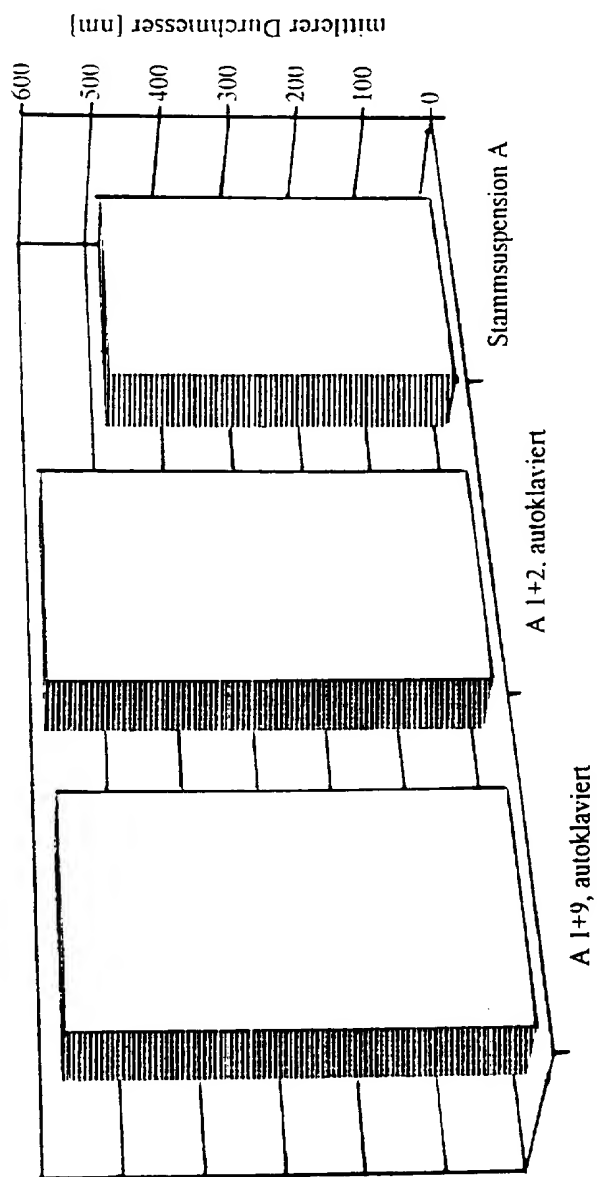
Figur 12

13/17

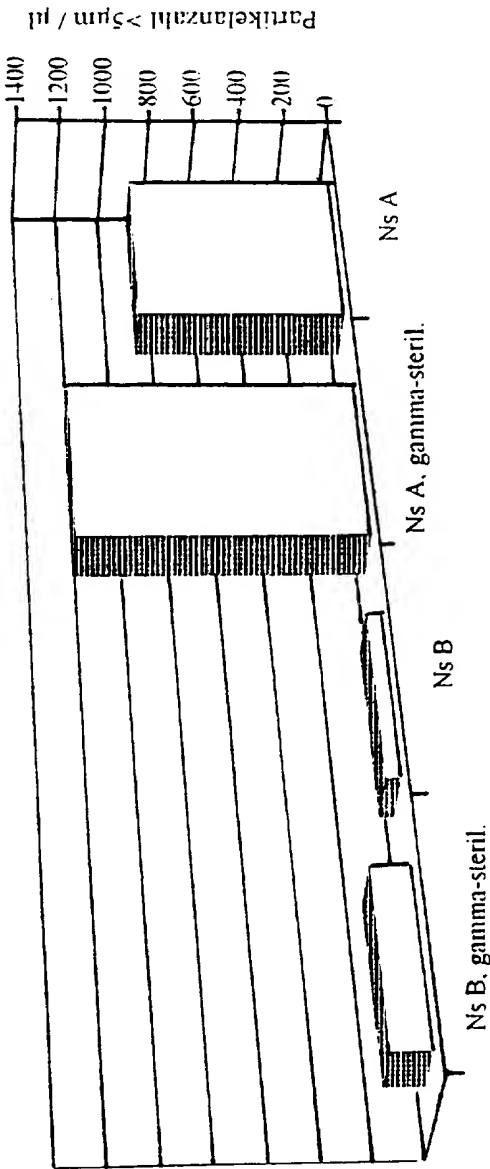


Figur 13

14/17

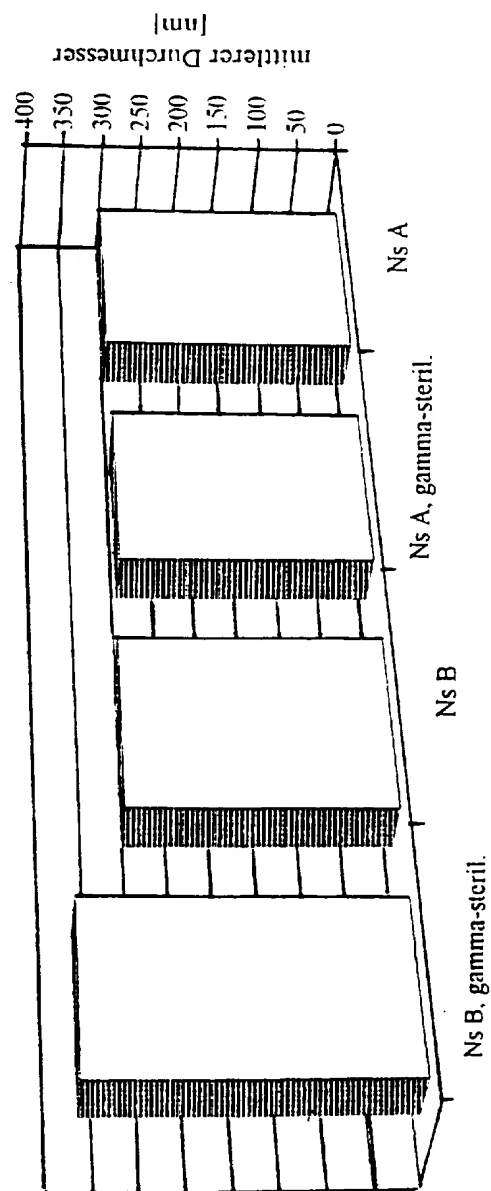


Figur 14



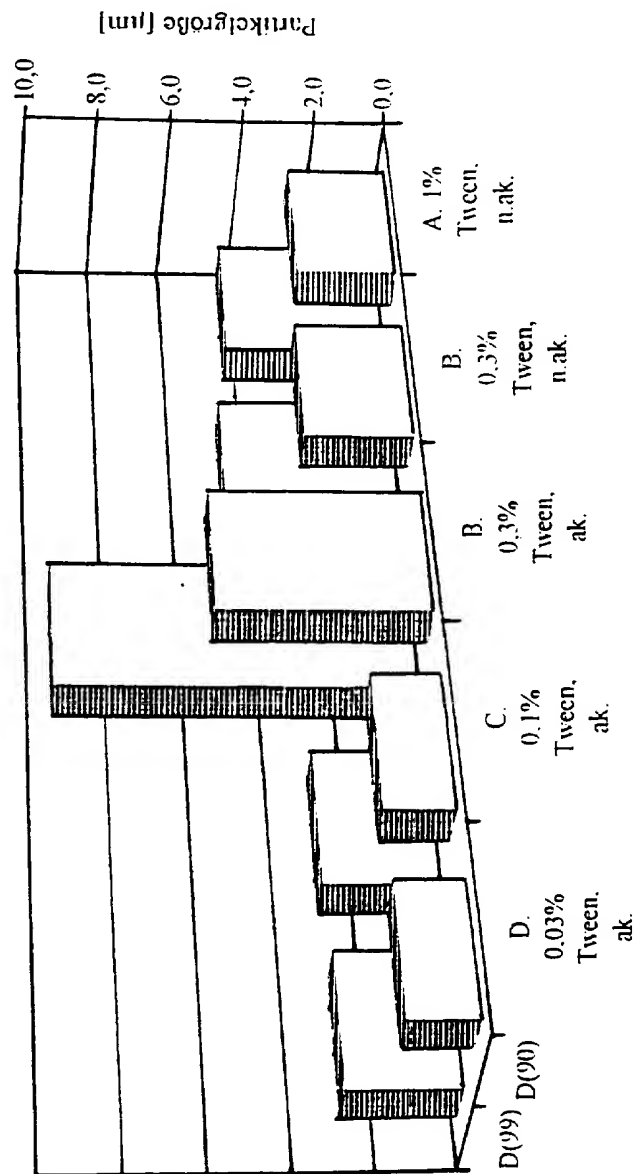
Figur 15

16/17



Figur 16

17/17



Figur 17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 95/04401

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K9/10 A61K9/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,94 14426 (THE WELLCOME FOUNDATION LTD) 7 July 1994 see page 2, paragraph 3 - page 3, paragraph 1 see page 4 - page 6; example 1 ---	1-8
X	WO,A,94 20072 (PHARMACIA AB) 15 September 1994 see page 26 - page 28; examples 2,3 see page 32; example 9 --- -/--	1-19, 21-23, 25-29, 31,32, 35-38

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 March 1996

Date of mailing of the international search report

10.04.96

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Boulois, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 95/04401

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,90 06746 (MEDICONTROL CORPORATION) 28 June 1990 see page 13; example 8 ---	1-4, 6-10, 15-17, 24, 26-29, 33,37
X	EP,A,0 361 928 (SHISEIDO COMPANY LTD) 4 April 1990 see page 2, line 12 - line 33 see page 5, line 12 - line 15 see page 6; example 1 ---	1-4, 6-10, 13-17, 26,27, 29, 33-35,37
X	US,A,4 879 308 (ALAM A.S. ET AL) 7 November 1989 see column 5, line 59 - column 6, line 6 see column 8; example 1 ---	1-4,10, 13,24, 29,37
X	EP,A,0 600 528 (STERLING WINTHROP INC) 8 June 1994 see page 14; example 1 ---	1-3,7, 9-16,18
X	WO,A,93 18752 (PHARMOS CORP) 30 September 1993 see page 14 - page 17; example 1 ---	1-4, 6-10, 15-17
X	DE,A,42 17 842 (DIETL H.) 2 December 1993 see column 5 - column 7; examples 1,2 ---	1-4, 6-10, 14-20
P,X	PROC. INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER., vol. 22, 30 July 1995 - 2 August 1995 pages 574-575, XP 000566632 MUELLER R.H. ET AL 'nanosuspension for the iv administration of poorly soluble drugs stability during sterilization and long term storage' see the whole document --- -/--	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No

PCT/EP 95/04401

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>EUROPEAN J. OF PHARM. AND BIOPHARM., vol. 40, no. 3, June 1994 STUTTGART, pages 157-160, XP 000450221 BOCK T. ET AL 'high pressure homogenisation of parenteral fat emulsions - influence of process parametres on emulsion quality' see page 157</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>1-4, 6-10, 13-17, 31-35,37</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter national Application No

PCT/EP 95/04401

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9414426	07-07-94	AU-B- 5710594	19-07-94
		CA-A- 2152615	07-07-94
		CN-A- 1103290	07-06-95
		CZ-A- 9501451	18-10-95
		EP-A- 0675711	11-10-95
		FI-A- 953139	22-06-95
		HR-A- 931516	31-10-95
		HU-A- 71528	28-12-95
		NO-A- 952522	22-06-95
		PL-A- 309629	30-10-95
		SI-A- 9300678	30-09-94
		SK-A- 82895	08-11-95
WO-A-9420072	15-09-94	AU-B- 6225394	26-09-94
		EP-A- 0687172	20-12-95
		FI-A- 954143	19-10-95
		NO-A- 953461	06-11-95
WO-A-9006746	28-06-90	CA-A- 2005810	21-06-90
		DE-D- 68909057	14-10-93
		DE-T- 68909057	24-03-94
		EP-A,B 0449960	09-10-91
		JP-B- 7121858	25-12-95
		JP-T- 4504108	23-07-92
EP-A-361928	04-04-90	CA-A- 1337397	24-10-95
		DE-D- 68914929	01-06-94
		DE-T- 68914929	11-08-94
		ES-T- 2052016	01-07-94
		JP-A- 2167217	27-06-90
		US-A- 5338761	16-08-94
US-A-4879308	07-11-89	US-A- 5001151	19-03-91
EP-A-600528	08-06-94	AU-B- 660852	06-07-95
		AU-B- 4867093	09-06-94
		CA-A- 2107400	26-05-94
		CZ-A- 9302277	15-06-94
		FI-A- 934320	26-05-94
		HU-A,B 67644	28-04-95

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 95/04401

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-600528		JP-A- 6209982 NO-A- 933719 NZ-A- 248813 SK-A- 130193	02-08-94 26-05-94 27-06-95 07-09-94
WO-A-9318752	30-09-93	AU-B- 3935293 CA-A- 2132736 EP-A- 0671903 JP-T- 7505368 ZA-A- 9302170	21-10-93 30-09-93 20-09-95 15-06-95 28-10-93
DE-A-4217842	02-12-93	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 95/04401

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K9/10 A61K9/14

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO,A,94 14426 (THE WELLCOME FOUNDATION LTD) 7.Juli 1994 siehe Seite 2, Absatz 3 - Seite 3, Absatz 1 siehe Seite 4 - Seite 6; Beispiel 1 ---	1-8
X	WO,A,94 20072 (PHARMACIA AB) 15.September 1994 siehe Seite 26 - Seite 28; Beispiele 2,3 siehe Seite 32; Beispiel 9 --- -/--	1-19, 21-23, 25-29, 31,32, 35-38

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
 - "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
 - "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
 - "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
 - "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21.März 1996

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

10.04.96

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Boulois, D

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO,A,90 06746 (MEDICONTROL CORPORATION) 28.Juni 1990 siehe Seite 13; Beispiel 8 ---	1-4, 6-10, 15-17, 24, 26-29, 33,37
X	EP,A,0 361 928 (SHISEIDO COMPANY LTD) 4.April 1990 siehe Seite 2, Zeile 12 - Zeile 33 siehe Seite 5, Zeile 12 - Zeile 15 siehe Seite 6; Beispiel 1 ---	1-4, 6-10, 13-17, 26,27, 29, 33-35,37
X	US,A,4 879 308 (ALAM A.S. ET AL) 7.November 1989 siehe Spalte 5, Zeile 59 - Spalte 6, Zeile 6 siehe Spalte 8; Beispiel 1 ---	1-4,10, 13,24, 29,37
X	EP,A,0 600 528 (STERLING WINTHROP INC) 8.Juni 1994 siehe Seite 14; Beispiel 1 ---	1-3,7, 9-16,18
X	WO,A,93 18752 (PHARMOS CORP) 30.September 1993 siehe Seite 14 - Seite 17; Beispiel 1 ---	1-4, 6-10, 15-17
X	DE,A,42 17 842 (DIETL H.) 2.Dezember 1993 siehe Spalte 5 - Spalte 7; Beispiele 1,2 ---	1-4, 6-10, 14-20
P,X	PROC. INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER., Bd. 22, 30.Juli 1995 - 2.August 1995 Seiten 574-575, XP 000566632 MUELLER R.H. ET AL 'nanosuspension for the iv administration of poorly soluble drugs stability during sterilization and long term storage' siehe das ganze Dokument ---	1-4

-/--

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/04401

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>EUROPEAN J. OF PHARM. AND BIOPHARM., Bd. 40, Nr. 3, Juni 1994 STUTTGART, Seiten 157-160, XP 000450221 BOCK T. ET AL 'high pressure homogenisation of parenteral fat emulsions - influence of process parametres on emulsion quality' siehe Seite 157</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	<p>1-4, 6-10, 13-17, 31-35,37</p>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/04401

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO-A-9414426	07-07-94	AU-B- 5710594	19-07-94
		CA-A- 2152615	07-07-94
		CN-A- 1103290	07-06-95
		CZ-A- 9501451	18-10-95
		EP-A- 0675711	11-10-95
		FI-A- 953139	22-06-95
		HR-A- 931516	31-10-95
		HU-A- 71528	28-12-95
		NO-A- 952522	22-06-95
		PL-A- 309629	30-10-95
		SI-A- 9300678	30-09-94
		SK-A- 82895	08-11-95
WO-A-9420072	15-09-94	AU-B- 6225394	26-09-94
		EP-A- 0687172	20-12-95
		FI-A- 954143	19-10-95
		NO-A- 953461	06-11-95
WO-A-9006746	28-06-90	CA-A- 2005810	21-06-90
		DE-D- 68909057	14-10-93
		DE-T- 68909057	24-03-94
		EP-A,B 0449960	09-10-91
		JP-B- 7121858	25-12-95
		JP-T- 4504108	23-07-92
EP-A-361928	04-04-90	CA-A- 1337397	24-10-95
		DE-D- 68914929	01-06-94
		DE-T- 68914929	11-08-94
		ES-T- 2052016	01-07-94
		JP-A- 2167217	27-06-90
		US-A- 5338761	16-08-94
		US-A-4879308	07-11-89
EP-A-600528	08-06-94	AU-B- 660852	06-07-95
		AU-B- 4867093	09-06-94
		CA-A- 2107400	26-05-94
		CZ-A- 9302277	15-06-94
		FI-A- 934320	26-05-94
		HU-A,B 67644	28-04-95

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 95/04401

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-600528		JP-A- 6209982 NO-A- 933719 NZ-A- 248813 SK-A- 130193	02-08-94 26-05-94 27-06-95 07-09-94
WO-A-9318752	30-09-93	AU-B- 3935293 CA-A- 2132736 EP-A- 0671903 JP-T- 7505368 ZA-A- 9302170	21-10-93 30-09-93 20-09-95 15-06-95 28-10-93
DE-A-4217842	02-12-93	KEINE	